

**Zellpräparate
bei der experimentellen Tubulonephrose
der Albinoratte**

Armin Zoller

1964.

Aus der Medizinischen Tierklinik der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. K. Ullrich

ZELLPRÄPARATE BEI DER EXPERIMENTELLEN
TUBULONEPHROSE DER ALBINORATTE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Armin Zoller
aus
Grassau

München 1964

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. L. Kotter
Referent: Professor Dr. K. Ullrich

Tag der Promotion: 28. Juli 1964



Durch das freundliche Entgegenkommen des Referenten,
Herrn Prof. Dr. K. Ullrich, konnte im Druck von einer
Wiedergabe der erläuternden Abbildungen abgesehen wer-
den. Die Photographien und histologischen Präparate liegen
zur Einsichtnahme in der Medizinischen Tierklinik auf.

MEINEN ELTERN IN DANKBARKEIT

GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literaturübersicht	2
A. Wirkungsmechanismus	2
B. Organspezifität	4
C. Zellulartherapie und Nephrose	6
1. Klinische Erfahrungen	6
2. Experimentelle Untersuchungen	8
D. Experimentelle Nephrose	10
III. Eigene Untersuchungen	12
A. Vorversuche	12
B. Hauptversuche	19
IV. Diskussion der Ergebnisse	31
V. Zusammenfassung	33
VI. Literaturverzeichnis	34
Lebenslauf	41

I. EINLEITUNG

Als empirisch deduzierte Heilmethode war die Zellulärtherapie, also die Injektions-Implantation heteroplastischen Materials zu therapeutischen Zwecken (72), nach einer Periode begeisterter Zustimmung heftiger Kritik ausgesetzt. Die Auseinandersetzung, die in den Bereich des Ideologischen abzugleiten drohte, fand wohl ihren Höhepunkt in dem "Bannspruch" des wissenschaftlichen Beirats des Deutschen Ärztetages 1957, wo Zellpräparaten, einschließlich lyophilisierten Zellen, nur ein Placebo-Effekt zuerkannt wurde. (13) An dieser Entwicklung waren nicht zuletzt Zelltherapeuten mitschuldig, die oft unbeschadet möglicher Kontraindikationen Zellen applizierten. Inzwischen haben sich die Wogen etwas geglättet. Der aristotelische Vorwurf - "der Mann der Erfahrung kennt zwar das Daß, aber nicht das Warum" (1) - hat eine intensive Forschung provoziert, die in zahlreichen Experimenten auf naturwissenschaftlicher Basis abzuklären sucht, ob der Anspruch der Zelltherapie so weit gehen kann, wie er aus der Empirie heraus erhoben wird.

Aufgabe vorliegender Arbeit war es, einige Präparate aus dem Komplex "Organotherapie im weitesten Sinne" auf ihre Wirkung bei der experimentellen Nephrose der weißen Ratte zu prüfen.

II. LITERATURÜBERSICHT

A. Wirkungsmechanismus

Der Lieblingsgedanke der älteren Zellulartherapie, daß das Injectum zum homologen Organ wandere, hat sich nicht bestätigen lassen (41). Zwar fanden sich nach MARSHAK und WALKER (33) mit radioaktiven Phosphaten markierte Mitochondrien, die aus Rattenlebern isoliert und anderen leberkranken Ratten injiziert wurden, in dem regenerierten Leberstück wieder. Ein Experiment, das auch HÖTZL und LAUDAHN (22) bei der Tetrachlorkohlenstoffgeschädigten Leber bestätigten, aber LETTRE (29) konnte zeigen, daß bei Injektion von Phosphor-markiertem Herz-, Leber- und Nierengewebe keine spezifische Anreicherung im homologen Organ erfolgt. Eine Ausnahme machte nur Hirn, wo eine Erhöhung der Aufnahme um 200 % eintrat. Allerdings ist hierbei zu beachten, daß bei den Untersuchungen LETTRE's die homologen Organe sich in Normalfunktion befanden. Eingehende Untersuchungen über das Schicksal injizierter Fremdgewebe hat SCHMID (65) angestellt: i. p. zugeführte "Frischzellen" sind durchschnittlich bereits nach einer Stunde entfernt. In Einzelfällen erst nach vier bis sechs Tagen. Die Frage, wie schnell der Abtransport vom Injektionsort verläuft, wurde auch von HARBERS untersucht. Die Resorptionsrate betrug nach Injektion von Lebergewebe 5 - 7 % pro Tag. Nach Schädigung durch Tetrachlorkohlenstoff stieg sie auf 15 - 20 % pro Tag an. Die histologischen Untersuchungen von SCHMID ergaben, daß die Fremdgewebe von körpereigenen Zellen umlagert werden, die Protoplasmafortsätze entsenden und die Gewebekomplexe von der Peripherie her auffressen, eine Makrophagie in toto also. Organ- und artfremde Trockengewebe (Siccazell-Präparate, wie Knorpel-, Nieren- und Plazentagewebe) benötigen bis zu ihrer Entfernung mehr Zeit als genannte organ- und artgleiche, aber körperfremde "Frischzellen". Bei fetalem Trockengewebe sind kaum nennenswerte Zellverschiebungen zu beobachten. Der Abtransport erfolgt in die Organe des RES. Der Autor schließt für die i. p. Injektion, bedingt durch die Kürze der Zeit, einen fermentativen Abbau aus, läßt ihn aber für eine i. m. Injektion offen. Das RES, dem gemeinhin eine wesentliche Rolle im Abwehrmechanismus des Körpers zukommt, scheint demnach bei der Zellwirkung mit eingeschaltet zu werden. In diese Richtung gehen auch die inzwischen klassisch gewordenen Untersuchungen von KUHN und KNÜCHEL (28). Werden dem Menschen i. m. lyophilisierte und in physiologischer Kochsalzlösung suspendierte fetale, tierische Organe zugeführt, so lassen sich im Serum am 2. - 3. Tag post inj. mittels der Kollodium-Partikel-

Reaktion Antikörper gegen wässrige Extrakte dieser Organe nachweisen. Interessanterweise praecipitieren die nach Injektion fetaler Schaforgane entstehenden Antikörper mit entsprechenden tierischen und auch menschlichen Organ-Antigenen, dagegen nicht oder erheblich schwächer mit heterologen Organen von Schaf und Mensch. Die Injektion tierischer Organe führt also sowohl zur Bildung von organspezifischen Hetero-, als auch von Autoantikörpern gegen die zur Injektion verwendete Organart. KUHNS und KNÜCHEL konnten allerdings nicht klären, ob und in welcher Art die körpereigenen Organe durch solche Autoantikörper beeinflusst werden. Den direkten Beweis, daß die organspezifischen Antikörper von den betreffenden Organen gebunden werden können, hatte zwar schon SMADEL (59) 1936 erbracht, der Ort der Bindung ist aber noch hypothetischer Natur. So vermuten FRESSMAN und EISEN (48) eine Bindung an das Gefäßendothel, gegen welches, nach einer Theorie von STREHLER (64), die sogenannten Organantikörper generell gerichtet sind. Unter klinischen Verhältnissen wurde von RIETSCHEL (49) eine Antikörperbildung, allerdings nur in 50 % seiner Beobachtungen, bestätigt. Er sieht im Anstieg der Eosinophilen den Ausdruck einer stattgehabten oder noch ablaufenden Antigen-Antikörper-Reaktion. Auch JANSON (25) erwähnt einen Eosinophilen-Anstieg bei einer Reihe seiner Kranken. In Fortführung der Gedanken von KUHNS und KNÜCHEL sieht SEEGER (57) den eigentlichen Ansatzpunkt in den Mitochondrien, die gemeinhin bei der Bildung spezifischer Antikörper mitbeteiligt sind. Entscheidend für eine Regeneration sei eine möglichst hohe Oxydationsfähigkeit. Durch die Zellulärtherapie würde eine spezifische Aktivierung der mitochondrialen Tätigkeit bewirkt, wofür eine Substitution der geschädigten Mitochondrien durch aktive, lebendige, jugendliche Eiweiße oder Mitochondrienteile zu fordern sei. Nach RIETSCHEL (50) sind aber Mitochondrien und Mikrosomen für solche regenerative Wirkungen wahrscheinlich nicht verantwortlich zu machen, weil ihre Strukturen labil sind und nach i. m. Gabe zerfallen. Seit den Experimenten KMENT's (26) steht jedoch fest, daß bei der Zellulärtherapie eine Zellstoffwechselaktivierung zustande kommt. Herz, Leber und Niere von Ratten, die mit Plazenta-, bzw. Testis-Sicczellen behandelt worden waren, wurden im Warburg-Verfahren hinsichtlich ihres Sauerstoffverbrauchs geprüft. Es zeigte sich, daß die Zellatmung einem beträchtlich jüngeren biologischen Alter entsprach, als die Versuchsratten tatsächlich hatten. Auf Grund der bisherigen Ergebnisse kommt RIETSCHEL (52) zu dem Schluß, daß die Zellulärtherapie keine bestimmten Krankheiten heile, sondern auf den Stoffwechsel einwirke und zur allgemeinen Regeneration führe, wobei Krankheiten verschwinden könnten.

B. Organspezifität

In der Frage der Organspezifität stehen sich, wie RIETSCHER (49) feststellt, grundsätzlich 2 Meinungen gegenüber. Die eine Gruppe, vor allem einige Anhänger der Zellulärtherapie, behauptet, es handle sich um spezifische Wirkungen, etwa in dem Sinn, daß Leberzellen eine kranke Leber zu heilen vermöchten. Diese Vorstellung sei reichlich naiv und entbehre auch vorläufig jeder klinischen Grundlage. Als Beweise führt RIETSCHER an: Plazenta habe bei tetanischen Krämpfen mehr Erfolg als Nebenschilddrüse. In den Untersuchungen KMENT's (26) hätten Testis-Zellen bei weiblichen Ratten einen stärkeren Einfluß auf die Gewebeatmung gezeigt, als Ovarium-Zellen. RIETSCHER, der 1953 noch der Ansicht war, die Wirkung von Niehans-Zellen sei spezifisch organotrop (54), vertritt nunmehr die Auffassung, man habe die Zellulärtherapie als eine besondere Form unspezifischer Reiztherapie zu werten, die durch die Vielzahl der einverleibten Antigene allen anderen Arten einer spezifischen Therapie überlegen sei. Auch die Untersuchungen von MÖSE, WENNIG und STEIN (39), die einen 51-fachen Titeranstieg der Heterohaemagglutinine nach Plazenta verabreichung fanden, wertet er als unspezifisch. MÖSE selbst schließt zwar eine unspezifische Eiweißreizung nicht aus, die Tatsache aber, daß auch bei der Verwendung eiweißfreier Plazentaextrakte eine deutliche Wirkung auf die Normalantikörper sichtbar wird, mache die Annahme einer alleinigen Eiweißreizung zumindest unwahrscheinlich. HOHLWEG (23) verneint eine organspezifische Wirkung. Ein Gewebe müsse von der gleichen Art stammen, wenn es im Organismus des erkrankten Lebewesens therapeutischen Erfolg haben soll. Ebenso ist nach PISCHINGER (47) die Zelltherapie unspezifischer Natur. GORDONOFF (16) untersuchte einige Zellpräparate (Siccazell) pharmakologisch. Während allen eine unspezifische Wirkung zukomme, wirkten einige wenige auch spezifisch. Hier sei näher auf die Experimente BERNHARD's und KRAM-PITZ' (2) eingegangen. Sie injizierten kastrierten Kaninchen Trockenzellen vom Endometrium eines trächtigen Kaninchens. Bei allen Versuchsreihen ließ sich beim Empfängertier eine Regeneration der Schleimhaut mit deutlicher Drüsenbildung beobachten. Da die Wirkung wahrscheinlich nicht hormoneller Natur sein könne (weder durch den Allen-Doisy-Test noch durch chemisch-analytische Methoden konnten in den Trockenzellen oder Frischzell-Implantaten feststellbare Östrogenmengen nachgewiesen werden) liege die Annahme eines spezifischen Effektes nahe. Bejaht wurde eine Spezifität von SCHMID, SCHUSTER und KREBS (67), die artfremde Trockenzellpräparate, artgleiche frische fetale Zellsuspensionen und Eiweißsubstanzen (Seren) hinsichtlich ihrer Wirkung auf das leukaemieähnliche Blutbild von AK-Mäusen prüften. Der Erfolg bestehe in

einer Induktion und nicht in einer Regeneration. Sie lassen offen, ob bei degenerativen Erkrankungen durch die Induktion nicht eine partielle Regeneration eingeleitet werden kann. LETTRE (29) kommentierte die Versuche von TEIR, die den Einfluß von Zellsuspensionen auf die Mitose-Häufigkeit in der Haut zum Gegenstand hatten, als "eine spezifische Antwort eines korrespondierenden Organs auf die Injektion von Zellen". Ebenso seien die Ergebnisse DULANEY's (9) und MALMGREN's (32) auszulegen. KUHN und KNÜCHEL (27) erbrachten in klinischen Versuchen mit der Bestimmung drüsentypischer 17-Ketosteroide den Nachweis einer organspezifischen Wirkung p. e. injizierter Trockenzellen (Hypophyse, Nebenniere und Testis). Um eine unspezifische Eiweißwirkung abzuklären, wurden fetale Schafslunge ohne Erfolg und Herzzellen ohne Signifikanz appliziert. Pyrifer setzte in der Wirkung rasch ein, klang aber ebenso schnell wieder ab. Eine maximale Steroidausscheidung erfolgte nach Gabe von Plazenta. Die endokrin stimulierende Wirkung von Plazenta-Sicczell bestätigt auch SCHUBERT (69). THEURER (70) beansprucht für die von ihm geschaffenen Revitorgan-Präparate (Hersteller: VITORGAN GmbH., Stuttgart), die aus aufgeschlossenen, sterilisierten, getrockneten Organvollsubstanzen bestehen, eine spezifische Wirkung, d. h. eine direkte Wirkung auf die gleichartige Organzelle. Aber auch eine unspezifische Wirkungskomponente sei in ihnen enthalten. Der spezifische Faktor sei über die Bildung von Antikörpern gegen die homologe Organzelle gerichtet. Revitorgan-Präparate führten nicht zu einer Substitution, wie sie u. a. von LETTRE (29) gefordert wurde, sondern stellten Muster einer induzierten Reproduktion dar. Sie wirkten sowohl als Aktivatoren, als auch als Schablonen für eine autokatalytische Erneuerung von defekten Strukturen. Eine Funktionssteigerung im gesunden Organismus sei nicht möglich, sondern nur eine Beseitigung von Schäden (71). Durch Entfernung von Blut und Serum konnte das von RIETSCHEL (52) beobachtete Belastungsstadium eliminiert werden. Durch Sprengung der Zellgrenzen und die unmittelbare Einwirkung der Zellbausteine seien wesentlich kleinere Injektionsmengen nötig. Nach THEURER (71) kommen bei der sogenannten "cytoplasmatischen Therapie", die denselben Wirkungsmechanismen wie die klassische Zellulärtherapie unterliege, nicht die ganzen Zellen in ihrer morphologischen und mikroskopischen Struktur zur Wirkung, sondern deren makromolekulare Bestandteile in Form der bei der Zerkleinerung der Organe entstehenden mitinjizierten Zelltrümmer. Mit zellfreien Gewebshomogenaten und den Bestandteilen des strukturierten Protoplasmas (Mitochondrien, Mikrosomen, Zellkerne) konnten dieselben biologischen Wirkungen erzielt werden, wie mit ganzen Zellen. Bestätigt wird diese Auffassung von SCHMID (65), dessen Versuchsergebnisse dafür spre-

chen, daß die Fremdzellen nicht in toto wirken, vielmehr in Bestandteilen des Zell-Leibes und Zell-Kernes. Nach BILLINGHAM, BRENT und MEDAWAR (4) ist eine spezifische Immunisierung, außer durch ganze Zellen, auch durch deren Kernfraktionen zu erzielen. In der Versuchsanordnung von DITTMAR (7) war sogar die Zerstörung von Zellstrukturen in den Zellpräparaten Voraussetzung für einen wirksamen Effekt. PASCHKIS, CANTAROW, GODDARD und ZAGERMAN (45) hingegen sehen in der Integrität der Gesamtheit der Zellinhaltsstoffe die Vorbedingung für einen Wirkungseintritt. Man kann mit RIETSCHEL (50) zusammenfassen, daß es durchaus denkbar und möglich, aber nicht eindeutig bewiesen ist, ob Teilprodukte der Zellen für die Regeneration bestimmter Organdefekte verantwortlich sind. - Übereinstimmung herrscht dagegen in der Frage, inwieweit Frisch- und Trockenzellen wirkungsgleich sind. Die Erfahrungen haben gezeigt, "daß gefriergetrocknete Zellpräparate die gleiche therapeutische Wirkung haben, wie unmittelbar übertragene Frischzellen". Die Konservierung verändert nicht den Biochemismus des Zelleiweißes und der übrigen Zellbestandteile (STEIN 61). Das organspezifische Eiweiß und die für die Eiweißwirkung der Zellprodukte verantwortlichen Nukleoproteide bleiben auch in der Gefriertrocknung unzerstört erhalten. (NEUMANN 41). Ebenso wie in den frischen, sind auch in den gefriergetrockneten Geweben die wichtigsten biochemischen Stoffgruppen in reaktionsfähigem Zustand nachweisbar (SCHMID 66). Im Interesse einer geringen Allergie- oder Anaphylaxie-Gefährdung werden fetale Zellen in der Frischzelltherapie bevorzugt. Derartige Komplikationen sind noch seltener, wenn gefriergetrocknete Zellen injiziert werden. Die antigene Potenz ist schwächer als bei Frischzellsuspensionen, weil bei der Wiederdurchfeuchtung weniger Zelleiweiß in Lösung geht. Laut MEDAWAR (34) tritt durch Lyophilisation sogar ein völliger Verlust der antigenischen Spezifität ein. Sollten sich die experimentellen Untersuchungen MEDAWAR's bestätigen lassen, so wären damit einige Theorien über den Wirkungsmechanismus der Zellulartherapie in Frage gestellt.

C. Zellulartherapie und Nephrose

1) Klinische Erfahrungen

In Unkenntnis der Tatsache, daß Zellen auf das Entzündungsgeschehen aggravierend wirken, wurden Zellpräparate zunächst auch bei Nephritiden eingesetzt. So berichtet HEINTZ (19) über 17 Patienten, die alle eine chronisch-diffuse Glomerulonephritis mit teils suffizienter, teils insuffizienter Niere aufwiesen. Die Beobachtung erstreckte sich auf insgesamt 10 Wochen. In Anwendung ka-

men 2 - 3 Ampullen fetaler Niere und Plazenta, bei den ödematösen Typen zusätzlich Thyreoidea (Siccazell). Bis auf eine Patientin, die den ödematös-albuminurischen Verlaufstyp zeigte, trat keine Änderung der pathologischen Befunde ein. Nur im genannten Fall einer Pseudonephrose kam es ab 12. Tag zu einer Diurese-Zunahme und Albumin-Abnahme, wobei sich aber nach 2 1/2 Wochen der frühere Zustand wieder einstellte. Eine Wiederholung der Therapie mit Thyreoidea allein zeitigte keinen Erfolg. Die beobachtete Diurese-Steigerung sei durch Trocken- oder Frischzellen verschiedener Organherkunft auch ohne Nierenerkrankung provozierbar, also nicht spezifisch. Der Verfasser kommt zu dem Schluß, daß die Zellulärtherapie bei allen Nierenerkrankungen nicht-ödematöser Art unwirksam sei. Seine ablehnende Haltung wurde verstärkt durch den Ausbruch einer Purpura rheumatica (Morbus Schönlein - Henoch) mit folgender Glomerulonephritis, die auf Trockenzellen vom Kalb zurückzuführen sei. Eine Erklärung für dieses offensichtliche Versagen bieten die experimentellen Untersuchungen durch MOENCH (36), sowie durch VORLAENDER, FITTING und GIERLICH (75). MOENCH injizierte Kaninchen Nephrotoxin gleichzeitig mit Trockenzellen fetaler Niere. Die Todesrate, das histologische Bild und die klinischen Befunde (einschließlich Gesamtcholesterinwert und Rest-N) lagen im Vergleich zu den Kontrolltieren ungünstiger. Plazenta-Trockenzellen ließen allerdings keinen Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrolltieren erkennen. Wurden dagegen Nierentrockenzellen erst am 10. Tage nach der Nephrotoxin-Gabe verabreicht und dann die Tiere 30 bis 40 Tage später getötet, so wiesen die zellbehandelten Tiere im histologischen Bild und im Elektrophorese-Diagramm ein günstigeres Bild auf. Der Verfasser zieht hieraus den Schluß, daß Nierentrockenzellen bei frischen entzündlichen Nierenerkrankungen das Krankheitsbild verstärken. Im Prinzip finden die Ergebnisse eine Bestätigung in VORLAENDER, FITTING und GIERLICH (75), die den Einfluß von Nierentrockenzellen auf die Masugi-Nephritis der Ratte prüften. Sie fanden die Nephritis verstärkt, falls Trockenzellen gleichzeitig mit Nephrotoxin gegeben wurden. Der Verstärkungseffekt tritt nicht ein, wenn die Zellinjektion 22 Tage vor oder 10 Tage nach der Nephrotoxin-Gabe erfolgte. Für den Verstärkungseffekt müsse eine Antikörperbildung gegen das in der Niere fixierte Fremdeiweiß aus den Trockenzellen, vielleicht auch die Ausbildung spezifisch gegen Niere gerichteter Antikörper - jedenfalls also ein sekundärer immunbiologischer Vorgang - verantwortlich gemacht werden, was sich als zusätzliche Noxe auswirke. SARRE (56) hält daher alle entzündlichen und degenerativen Gefäßprozesse der Niere (akute Nephritis, chronisch-vasculäre Nephritis, Schrumpfniere) als ungeeignet für Zellen, da sie zum Teil verschlechtert würden. Die chro-

nisch-entzündliche Nephritis mit nephrotischem Einschlag spreche weder auf ACTH noch auf die Zellulartherapie an. Je ausgesprochener hingegen ein Krankheitsbild eine reine Nephrose darstelle, um so besser seien die Erfolgsaussichten. Die echte Lipoidnephrose eigne sich ausgezeichnet für Zellen (RIETSCHEL 52). 1955 berichtet RIETSCHEL (51) über 13 Fälle von Nephrose verschiedener Genese, die mit Zellen angegangen wurden. 4 Fälle wurden klinisch geheilt, wobei die Beobachtungszeit sich über 1 Jahr erstreckte. 4 Fälle waren sichere Versager und in 2 Fällen trat erhebliche Besserung ein. Er fand die bisherigen Ergebnisse ermutigend. Falls jedoch auch nur geringe Anzeichen einer Niereninsuffizienz bestünden, wenn also eine erhöhte Reststickstoff-Ausscheidung vorliege und deutliche Zeichen einer beginnenden Anurie vorhanden seien, sei es unter keinen Umständen erlaubt, die Zellulartherapie anzuwenden (53). SARRE (56) stimmt mit RIETSCHEL darin überein, daß die Zellulartherapie sich nur beim nephrotischen Syndrom bewährt habe. Hier sei der Erfolg zum Teil besser als mit ACTH und Cortison. Auch ACTH-Versager hatten später teilweise gut auf Frischzellen angesprochen. ROEDER (55) berichtet von einem Patienten, der seit 7 Jahren an einer postnephritischen Nephrose leidet. Er erhielt 3 x im Abstand von 2 Tagen Trockenzellen fetaler Niere, Schilddrüse und Nebenniere. 10 Tage nach Behandlungsbeginn stieg die tägliche Ausscheidungs- menge von 200 auf 1200 ml an. Die Proteinurie ging auf 0,6 ‰ Esbach zurück, der Rest-N fiel von 41,47 mg % auf 27 mg %. Leider finden sich keine Angaben über den späteren Verlauf dieses Falles. Im Gegensatz hierzu faßt RIETSCHEL 1961 (49) seine Erfahrungen folgendermaßen zusammen: die postnephritische Nephrose als Folge einer Glomerulonephritis sollte niemals mit Zellen angegangen werden, zumal meistens dabei Blutdruckerhöhungen und schwere Schädigungen im Glomerulus-Apparat vorhanden sind, welche die Anwendung der Zellen verbieten. Insgesamt sei die Indikationsliste der Nierenerkrankheiten für Zellen immer mehr eingeschränkt worden, nachdem sich herausgestellt habe, daß echte Nephrosen etwas außergewöhnlich Seltenes sind.

2) Experimentelle Untersuchungen

Die Wirkung von Trockenzellen auf den Arsenobenzolschaden, also einer toxischen Nephrose, wurde von GRÜBER (17) untersucht. Von 60 weiblichen Ratten mit einem Gewicht von 90 - 100 g, die insgesamt 5 Injektionen von 0,1 mg Neosalvarsan im Abstand von 2 Tagen unter die Nackenhaut injiziert bekamen, wurden 30 Versuchstiere je 4 - 2 Tage vor Beginn und 1 Tag nach der 1. Salvarsan-Injektion mit je 0,5 ml Siccazell-Niere i. m. behandelt. Die mit Salvarsan und Trockenzellen behandelten Tiere setzten in der Sterblichkeit nur zögernd ein.

Dann aber läuft die Letalitätskurve annähernd parallel. Am 13. Tag der insgesamt 30-tägigen Beobachtungszeit waren noch 11 Versuchstiere, aber nur 3 Kontrolltiere am Leben. Bei einer überlebenden und am 16. Tag getöteten Versuchsratte war in den Tubuli weitgehend Restitution eingetreten. Kein Unterschied war im Auftreten von Lebernekrosen festzustellen. Während die Versuchstiere bereits vor der letzten Noxe an Gewicht zunahmen, blieb die Kurve der Kontrolltiere auf gleichem Niveau. Im Prinzip entsprechen die Versuche denen STILLE's (62) an 20 Tieren, wobei allerdings in den ersten Tagen eine höhere Absterberate zu verzeichnen war. Am Versuchsende war jedoch die Überlebensquote wieder gleich. Wenn man einen Gehalt von 1 - 2 % schwefelhaltiger Aminosäuren in den Trockenzellen annimmt, so ist unter Umständen eine Entgiftung des Neosalvarsans eingetreten, was allerdings spezifisch für Intoxikationsversuche mit Neosalvarsan gilt. Damit wären auch die anderen guten Resultate mit eiweißhaltigen Substanzen, z. B. Prohepar, erklärbar. In einer erweiterten Nachuntersuchung der Arbeit von GRÜBER durch MOENCH und BURGHARD (37) wurden bei gleicher Versuchsanordnung zusätzlich 30 Tiere mit 3 x 10 mg lyophilisiertem Kaninchenserumeiweiß behandelt. Am 13. Versuchstage lebten von den allein mit Neosalvarsan gespritzten Tieren noch 83 %, von den mit Neosalvarsan und Kaninchenserum behandelten Ratten noch 74 %, von denen, die Neosalvarsan und Siccacell erhalten hatten, nur noch 70 %. Die Siccacell-Tiere wiesen einen zum Teil signifikant schwereren Krankheitsverlauf hinsichtlich der nephrotischen Dysproteinaemie, sowie des Rest-N-Wertes auf. Bei alleiniger Berücksichtigung der überlebenden Tiere, zeigten die mit Siccacell und Kaninchenserumeiweiß behandelten Gruppen etwas geringere histologische Nierenschäden als die Ratten, die nur Neosalvarsan erhielten. Dies sei dadurch zu erklären, daß durch den zusätzlichen Stress der i. m. Eiweißinjektionen die stärker erkrankten Tiere spontan eingingen.

Nach Auffassung der Untersucher führen, im Gegensatz zu den Erkenntnissen GRÜBER's, gleichzeitige parenterale Eiweißinjektionen zu einer deutlichen Erschwerung der akuten toxischen Neosalvarsan-Nephrose der weißen Ratte, gleichgültig, ob nun Trockenzellen oder Kaninchenserumeiweiß injiziert wird. Ähnliche Versuche wie GRÜBER hat NEUMANN (42) angestellt. Bei insgesamt etwa 500 Mäusen wurden Intoxikationsversuche mit Sublimat unternommen, die sich bis zum 12. und 14. Tage der Versuchsdauer mit denen GRÜBER's decken. Führt man die Beobachtung aber über den 16. und 18. Tag hinaus, so zeigt sich eine große Diskrepanz; nicht-behandelte Tiere, die also nur Sublimat erhielten, kamen schließlich zu 100 % ad exitum, während aus der Gruppe der mit Siccacell behandelten Tiere immerhin 40 % überleb-

ten. Der Effekt wird besonders deutlich, wenn man nach Eintreten einer Schutzwirkung - etwa nach dem 25. Tage - noch einmal eine Sublimat-noxe setzt. Eine Dosis Sublimat, die zu einem 95 %igen Absterben der Versuchstiere führt, ist für Siccacell-behandelte Tiere weniger toxisch. Von diesen vorbehandelten Tieren stirbt ein verhältnismäßig kleiner Prozentsatz, der allerdings in der vorliegenden Arbeit nicht exakt angeführt wird. NEUMANN sieht sich daher veranlaßt, darauf hinzuweisen, daß der Wirkungsmechanismus der Zellulärtherapie erst nach einem Zeitraum von etwa 14 Tagen voll einsetzt. Eine Erkenntnis, die von RIETSCHEL (53) mit klinischen Erfahrungen belegt wird.

Abgesehen von einer eingehenden, generellen Stellungnahme zur Zellulärtherapie aus klinischer Sicht durch ULLRICH (73) liegen von seiten der Tiermedizin keine speziellen Arbeiten zum Problem "Nephrose und Zelltherapie" vor.

D. Experimentelle Nephrose

Der erste Literaturüberblick über die experimentelle Nephrose ist von MAC NIDER (43) erstellt worden. Die Nephrose des Menschen, sowie die experimentellen Studien bei Tieren wurden von EHRICH, FORMAN und SEIFER (10) diskutiert. Eine eingehende Darstellung der Literatur mit eigenen Untersuchungen wurde in letzter Zeit von CATER und PETERS (6) gegeben. Sie entdeckten, daß synthetisch gewonnenes Fluorcitrat eine Lipoidnephrose erzeugte, die je nach Dosis 2 Stunden bis 2 Tage danach letal endete. Das histologische Bild wird eingehend beschrieben. Fluorcitrat sei ein Mitochondriengift und führe zu einem spezifischen Block im Citronensäurezyklus an der Aconitase. An Substanzen, die ein nephrotisches Bild erzeugen, sind bislang im wesentlichen bekannt: Chromate, Uranylнитrat, Quecksilbersalze, organische Arsenverbindungen, Safranin O., Tartrate, Oxalate, Kalium-Mangel in der Nahrung, massive Cortison- oder ACTH-Dosen, nephrotoxisches Serum, Aminonukleosid, Natrium-tetrathionat, Alloxan. Während Chromsalze den oberen Abschnitten der Tubuli schädigen, liegt der Angriffspunkt von Uranylнитrat, Quecksilbersalzen, Kantharidin in den tieferen Abschnitten. Kantharidin schädigt daneben auch noch die Glomeruli. Die Tubulonephrose durch organische Arsenverbindungen wurde bereits 1924 von MAC NIDER beschrieben. PETERS et al. (46) führen die toxische Wirkung 1-substituierter 3-wertiger Arsenverbindungen wie Lewisite auf eine Verbindung des Arsen mit 2 benachbarten SH-Gruppen zu einem ziemlich stabilen Ring zurück. Im Oxydasesystem tritt eine Hemmung ein, die durch BAL (2,3 Dimercaptopropanol) einem Quecksilber-Antidot (14), aufgehoben

werden kann. Nekrosen, vornehmlich der oberen Abschnitte der Tubuli, nach 20 mg/kg Körpergewicht i. v. Safranin an Kaninchen und Hunde sind von GINZLER (15) beschrieben. Das histologische Bild ähnelt dem einer Schwermetallvergiftung. Tartrate und Oxalate rufen eine akute Tubulonekrose hervor. Vermutlich wirken sie, indem die Verwendbarkeit von Ca^{++} herabgesetzt und wesentliche Zellenzyme blockiert werden. Cortison und ACTH können in hohen Dosen eine fettige Entartung der Tubuli mit Lipoideinlagerung in Tubuluszellen hervorrufen. Spezifisches Antinierenserum, das zuerst von LINDEMAN (30) geschaffen wurde und auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion beruht, ruft in der akuten Phase eine hyalin-tropfige Entartung der Zellen hervor. Im subakuten Stadium tritt auch eine fettige Degeneration auf. (HEYMANN und LUND 20). Je spezifischer das Serum, um so enger begrenzt bleibt die alleinige Schädigung der Tubuli. Bei sc. Injektion von 6-Aminonukleosid an jungen Ratten sahen FRENK, ANTONOWICZ, CRAIG, METCOFF (12) eine Verdickung der glomerulären Basalmembran, einen Verlust von Mitochondrien mit fettiger Degeneration der intrazellulären Zellbestandteile im Bereich der Tubuli contorti. Großer Eiweißverlust und subkutane Ödeme traten auf. Als Dosierung gibt MIETTINEN (35) 3,0 ml einer 0,5 %igen Lösung sc. an. GILMAN, ALLEN, PHILIPS und ST. JOHN (14) erzeugten mit Natriumtetrathionat so schwere Nekrosen der proximalen Tubulusabschnitte bei Hunden, daß innerhalb von 30 - 60 Minuten völlige Anurie auftrat. Auch SLOAN (58) berichtet von experimentellen Urämien (Hund) nach Natriumtetrathionat. Neben einem spezifischen zytotoxischen Effekt auf die β -Zellen des Pankreas wurde von DUFF (8) eine Schädigung der Tubuli contorti mit Alloxan gesehen. Alloxan geht eine Verbindung mit den Thiol-Gruppen des Niereneiweißes ein. All die bekannten Substanzen schädigen nach Auffassung von CATER primär nicht die Epitheldeckzellen, sondern die Mitochondrien der Tubuluszellen. Als Beweis führt er u. a. elektronenmikroskopische Untersuchungen durch VERNIER, PAPERMASTER und GOOD (74) an, die anhand einer Aminonukleosid-Nephrose zunächst Schwellungsherde zwischen den cristae der Mitochondrien sahen. Als Erklärung für die verschiedenen Angriffspunkte der beschriebenen nephrotoxischen Substanzen gibt CATER an: das lösliche Fluorocitrat, Chromsalze, Tartrate, Oxalate, Tetrathionate und Alloxan werden über das Glomerulus-Filtrat ausgeschieden, weshalb sie die Anfangsabschnitte der Tubuli contorti schädigen. Schwermetalle hingegen dürften stärker an Eiweiß gebunden sein und die Tubuli über Arterien erreichen, die den aufsteigenden Ast der Henle'schen Schleife und die distalen Abschnitte der Tubuli versorgen.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Vorversuche

Aus einer Arbeit des Heiligen-Berg-Institutes (5) über Dekontaminationsversuche mit radioaktiven Isotopen und den sich daran anschließenden Briefwechsel ging hervor, daß nach 1,2 - Dioxybenzol - disulfonsäure Dinatriumsalz 48 Stunden nach i.p. Injektion von 1200 Mikromol bei 150 g schweren Ratten eine deutliche Verfärbung der Nieren auftrat. Histologische Untersuchungen lagen allerdings nicht vor.

1. Vorversuch

Dieser Anregung folgend erhielten 2 weibliche Albinoratten mit einem Lebendgewicht von 175 bzw. 180 g je 1380 Mikromol Brenzcatechindisulfonsäure, in je 2,3 ml Aq. dest. frisch gelöst, i.p. was einer Menge von 1200 Mikromol in 2,0 ml Aq. dest. bei 150 g Körpergewicht entspricht. Die verwendete Lösung war 20 %ig. 3 Tage vor der Injektion wurde der Ham beider Tiere im Stoffwechselkäfig gewonnen, ein Hamstatus erstellt und das Sediment untersucht. Pathologische Befunde waren nicht zu ermitteln. 2 Tage später wurden die Tiere durch Decapitation getötet, Leber, Milz, Niere lebenswarm entnommen und der histologischen Untersuchung zugeführt. Makroskopisch schienen die Nieren bei normaler Größe in ihrer Farbe etwas heller als üblich. Der 12-Stunden-Harn wies nur bei Versuchstier Nr. 2 einzelne granulierte Zylinder und geringgradige Albuminurie auf. Der übrige Harnbefund war normal. Die histologischen Untersuchungen ergaben eine mittelgradige Tubulonephrose konzentriert auf die proximalen Abschnitte der Tubuli, mit ausgeprägten Regenerationserscheinungen. Die Glomeruli sind nicht tangiert. Leber und Milz scheinen unverändert.

Brenzcatechin-3,5-disulfonsäure Dinatriumsalz (Tiron, Tiferron, MERCK) ist ein weißes, kristallines, wasserlösliches Pulver mit einem Molekulargewicht von 332,22. Tiron ist ein sehr empfindliches Reagens auf Eisen und dient als Indikator für die komplexometrische Titration nach SCHWARZENBACH (24). Über eine toxische Wirkung von Tiron liegen keine Veröffentlichungen vor. Sulfonsäure wird allgemein als Antioxydans in Zubereitungen von leicht oxydablen Therapeutica verwendet (21). Bei der Klärung des Wirkungsmechanismus ist das schädigende Agens entweder in den freien phenolischen OH-Gruppen oder in der Substanz als Ganzem zu sehen. Auf der Suche nach Komplexbildnern für parenteral zu verabreichende Metalle fand SCHMIDT (68), daß Tiron weitgehend

den Forderungen entspreche, nämlich für den Körper indifferent zu sein und nur die Einverleibung, Resorption und Verteilung des Metalls zu begünstigen. Selbst in hohen Dosen würde es von der Maus gut vertragen. Metalle seien in Form ihrer Komplexsalze mit Tiron allgemein und lokal gut verträglich. Aus dieser Erkenntnis heraus entstanden Verbindungen mit Antimon zu Arzneimitteln gegen Tropenkrankheiten, die dadurch i. m. applizierbar wurden, wie Fuadin oder Neo-Antimosan. Im Selvadin ist Calzium an Tiron gebunden, wodurch anorganisches Ca i. m. verträglich ist. Bei gleichzeitiger Injektion von Metallsalzen (Kupfer, Zink, Antimon, Wismut) und Tiron, ist nach HECHT und EICHHOLTZ (18) deren Toxizität stark herabgesetzt. So gelang es, auf dem Weg der Komplexbildung, an der Maus die bei s. c. Injektion letale Dosis von 2 - 3 mg Bi-Ammoniumcitrat durch Vorbehandlung mit Tiron (60 mg pro 20 g Maus s. c.) auf 20 mg heraufzusetzen. Bei i. v. -Zufuhr gelang diese Entgiftung nicht. WEESE (76) hat nun beobachtet, daß Tiron auch körpereigenes Ca mobilisiert. Wie bereits erwähnt, vermutet MAC NIDER (43) die Ursache für eine akute Tubulonephrose durch Tartrate und Oxalate in einer Ca-Blockade. Demnach könnte hierin ein Angriffspunkt für Tiron gegeben sein. Die Darlegungen SCHMID's, Tiron sei für den Körper indifferent, weisen also eine erhebliche Diskrepanz zu den eigenen, noch folgenden Versuchsergebnissen auf und bedürfen einer Revision.

Mit den vorliegenden Experimenten sollten 2 Fragen geklärt werden:

- 1) Ist eine Tubulonephrose durch Tiron klinisch faßbar?
- 2) Ist ein exitus durch einmalige Tironverabreichung zu erzielen?

Verwendet wurde zunächst eine etwa 20 %ige Lösung von Tiron. In den Versuch wurden 4 weibliche Ratten genommen, deren Ham täglich im Stoffwechselkäfig gewonnen und untersucht wurde. Die Fütterung erfolgte mit Alumin Standard für Ratten; Wasser stand ad libitum zur Verfügung. Folgende Harnuntersuchungen wurden vorgenommen: Menge, Farbe, Konsistenz, Reaktion, spezifisches Gewicht, falls möglich, Eiweiß (mittels Sulfosalicylsäureprobe und parallel Albustix), Zucker (Glucotest), Haemoglobin (Benzidinprobe), Aceton (Acetest), Bilirubin (Ictotest), Urobilinogen und zum Teil Indikan. Das Sediment wurde qualitativ untersucht. Es sei mit Nachdruck darauf hingewiesen, daß die durch Schnelltests ermittelten Prozentangaben nur Näherungswerte darstellen und nicht den Anspruch auf äußerste Exaktheit erheben können.

2. Vorversuch

2 Versuchstiere, Nr. 3 und 4, im Gewicht von je 200 g, erhielten je 1500 mikromol Tiron in 2,5 ml Aq.dest. i. p. Weitere 2 Ratten, Nr. 5 und 6, je 160 g schwer, wurden je 1380 mikromol Tiron in 2,3 ml Aq.dest. injiziert. Bereits 1/2 Stunde post injectionem erscheint Tiron im Harn und wird bis 48 Stunden ausgeschieden, was sich durch Zugabe von Fe^3 -Chlorid (Farbumschlag nach dunkelblau-grün) leicht nachweisen läßt. Nach WIEGAND (77) sind 78 % der Tironmenge nach 24 Stunden wieder im Harn ausgeschieden.

Die Injektion wird zunächst mit heftigen Schmerzäußerungen beantwortet, die aber innerhalb einer Minute abklingen und von einer leichten Apathie, die Stunden bis Tage andauert, abgelöst werden. Bereits im 24-Stunden-Harn finden sich vereinzelt bis zahlreich granulierte Zylinder, maximal am 2. Tage post injectionem. Am 3. Tage war keine Zylindrurie mehr festzustellen. Dagegen dauerte bei allen Tieren die Proteinurie, mit Climax um etwa 300 mg % um den 2. bis 3. Tag, über 6 Tage an. Auch eine Glykosurie mit Höchstwerten von 1/2 mg % um den 4. Tag trat auf, die ebenfalls ab dem 6. Tage zur Norm zurückkehrte. Das spezifische Gewicht sank nie unter 1020. Der Harn wurde täglich über eine Woche lang untersucht. Eine letzte Untersuchung, die keine pathologischen Werte erbrachte, wurde bei Versuchstier Nr. 3 und 6, 14 Tage nach der Injektion, vorgenommen.

3. Vorversuch

Um die Volumenzunahme der fertigen Lösung bei steigenden Tironmengen in Grenzen zu halten, wurde die Konzentration auf etwa 33 % erhöht. Das entspricht einer Menge von 1000 mikromol Tiron auf 1,0 ml Aq.dest.

4 Tiere wurden in Versuch genommen:

Nr. 7 (Gew. 200 g) erhielt 1500 mikromol in 1,5 ml Aq.dest.

Nr. 8 (Gew. 195 g) erhielt 2000 mikromol in 2,0 ml Aq.dest.

Nr. 9 (Gew. 195 g) erhielt 2500 mikromol in 2,5 ml Aq.dest.

Nr. 10 (Gew. 200 g) erhielt 3000 mikromol in 3,0 ml Aq.dest.

Im Kontrollversuch wurden einem Kontrolltier (Gew. 150 g) 4,0 ml Aq.dest. verabreicht. Vor der Injektion wurde der Nachtharn gewonnen. Er betrug in der Reihenfolge der Tiere: 2,5 3,3 5,4 3,6 ml, war durchwegs klar und zitronengelb. Außer einer geringgradigen Proteinurie bei Nr. 9 und 10, die nach SMITH (60) physiologisch ist, finden sich keine auffälligen Befunde. Die Reaktion bewegte sich zwischen pH 6,0 und 6,3. Neben einzelnen Plattenepithelien

waren vereinzelt Leukozyten im Sediment zu finden. Versuchstier Nr. 9 starb 2 Stunden nach der Injektion. Die Sektion erbrachte ein ausgebreitetes Haematom im Bereich der Bauchwand als vermutliche Todesursache. Wahrscheinlich war ein Gefäß bei der Injektion verletzt worden. Versuchstier Nr. 10 war hochgradig apathisch, konnte sich nur torkelnd bewegen und wurde tags darauf tot aufgefunden. Bei der Sektion war makroskopisch keine Organschädigung zu ermitteln. Das Kontrolltier hatte die 4,0 ml Aq. dest. ohne Komplikation vertragen. Die Höhe der Eiweiß- und Zylinder-Ausscheidung war gegenüber der vorhergehenden Serie interessanterweise verringert, in der Ausscheidungsdauer etwa gleich. Eine Glykosurie war ab 3. Tage nicht mehr faßbar. Auch die Harnmenge kehrte am 3. Tag von 13,0 ml auf 2,7 bzw. 5,5 ml wieder zurück. Zwar war die Konsistenz etwas wässriger und die Farbe etwas heller als normal, doch sank das spezifische Gewicht nicht unter 1010.

Als Ersatz für das vermutlich am Haematom eingegangene Tier, wurden in Wiederholung des Versuches 2 weibliche Ratten (Nr. 11 und 12, im Gewicht von 203, bzw. 205 g) in den Versuch übernommen. Sie erhielten je 2500 Mikromol in 2,5 ml Aq. dest. i.p. Zwar trat eine starke Proteinurie (300 mg %) am 2. Tage während der 5-tägigen Beobachtungszeit, begleitet von einer Glykosurie während der 1. beiden Tage, auf, die auch bei der Nachkontrolle am 16. Tage noch Eiweißwerte zwischen 30 und 100 mg % bei beiden Tieren erbrachte. Zylinder waren jedoch bei Nr. 11 nur am 1., 2. und 5. Tage in geringer Menge und bei Nr. 12 nur am 2. und 3. Tag in vereinzelten Vertretern zu finden.

Die einleitende Frage, ob einmalige Tironapplikation ad exitum führen könne, ist dahingehend zu beantworten, daß mit hoher Konzentration und hohem Volumen der Tod der Versuchstiere nicht ausgeschlossen ist.

4. Vorversuch

Wiederholte Applikation von Tiron

Um der Notwendigkeit, große Volumina zu verwenden, zu entgehen, wurde in der Folge versucht, Tiron wiederholt in wechselnden Abständen zu verabreichen. Als Abstand wurden zunächst 9 Tage gewählt. Es erhielten i.p.:

Nr. 7 (Gew. 200 g) 3 x 1500 Mikromol in 1,5 ml Aq. dest. (33 %ig)

Nr. 8 (Gew. 195 g) 2 x 2000 Mikromol in 2,5 ml Aq. dest. (33 %ig)

Nr. 4 (Gew. 200 g) 2 x 1500 Mikromol in 2,5 ml Aq. dest. (20 %ig)

Auffälligerweise wurden nach der 2. Injektion bei Nr. 7 und 8, wie auch bei

Nr. 4 nach der 2. Injektion geringere (maximal 30 mg %) Eiweißmengen ausgeschieden, als nach der 1. Bei Nr. 4 traten keine Zylinder mehr im Harn auf, bei Nr. 7 geringe Mengen am 1. und nur mehr vereinzelte Vertreter am 2. Tage post injectionem. Nr. 8 wies nur am 1. Tag einzelne granulierten Zylinder auf. Nr. 8 schied nach der 3. Injektion 2 Tage lang Protein aus, das an der Grenze des Normalen lag, ohne daß Zylinder auftraten. Eine Untersuchung am 32. Tage nach der 1. Injektion erbrachte einen normalen Harnstatus.

5. Vorversuch

In der folgenden Serie wurde der Abstand zwischen 2 Applikationen von 10 Tagen auf 3 verkürzt. Es erhielten:

Nr. 13 (Gew. 205 g) 5 x 1500 Mikromol in 1,5 ml Aq. dest. (33 %ig)

Nr. 14 (Gew. 200 g) 5 x 1500 Mikromol in 1,5 ml Aq. dest. (33 %ig)

Nr. 15 (Gew. 210 g) 2 x 1500 Mikromol in 2,5 ml Aq. dest. (20 %ig)

Nr. 16 (Gew. 205 g) 2 x 1500 Mikromol in 2,5 ml Aq. dest. (20 %ig)

Während Versuchstier Nr. 13 und 14 insgesamt je 5 Injektionen erhielten, ohne daß der Tod eintrat - der Versuch wurde danach abgebrochen - kamen Nr. 15 und Nr. 16 nach der 2. Injektion, also am 4. Tage ad exitum. Nr. 15 schied am 1. Tage bei einer Menge von 13,0 ml klaren, wässrigen, rosafarbenen Harns mit einem spezifischen Gewicht von ca. 1030 Protein von 100 bis 200 mg % aus. Glucotest zeigt 1/4 g % an. Der pH-Wert lag bei 6,0. Neben hochgradigem Detritus traten einzelne Erythrozyten, einzelne Leukozyten und Nierenzellen, aber keine Zylinder auf. Am 2. Tage konnte kein Urin gewonnen werden; am 3. nur 0,7 ml, wässrig hellen Urins, mit einer Reaktion von 6,3. Der Eiweißwert betrug 300 mg %. Der des Zuckers 1/10 g %. Im Sediment waren nur einzelne Leukozyten und Erythrozyten zu finden. Am Morgen des 4. Tages wurde Nr. 15 totenstarr im Käfig aufgefunden. Pathologisch-anatomisch zeigten sich keine Veränderungen. Der Reststickstoffwert, der mit Urastrat-schnelltest ermittelt wurde, betrug 107,0 mg %. Der Harnstatus von Nr. 16 war, abgesehen von der Hammenge, die 8,0 ml betrug, nahezu identisch mit Nr. 15. Am 2. Tage fanden sich in 7,5 ml hellgelben, wässrigen Urins, mit spezifischem Gewicht 1025 und pH 5,8 einzelne granulierten Zylinder. Der Eiweißindex lag bei 100 mg %. Zucker wurde zwischen 1/10 und 1/4 g % ausgeschieden. Albuminurie und Glykosurie dauerten auch am 3. Tage noch an. Die Hammenge belief sich auf 9,7 ml. Der Nachtharn vom 3. auf den 4. Tag (nach der 2. Injektion) erbrachte nur mehr 1,5 ml rostbraunen Urins, pH 7,0, Eiweiß 300 mg %, Zucker 1/10 g %. Im Sediment geringgradig Nierenzellen,

geringgradig Erythrozyten, Leukozyten. Das Tier befand sich in moribundem Zustand und verstarb gegen 12 Uhr Mittag. Die Leber war vergrößert und ockerfarben. Die Nieren waren groß und hell. Der Urastratwert betrug 101,7 mg %. Im histologischen Schnitt war die Leber mittelgradig verfettet, was u. U. auf die Ernährung zurückzuführen ist, während Nr. 15 nur eine leichte Kemunruhe aufwies. Die Nieren beider Tiere waren im Bereich der Tubuli recti und contorti hochgradig nephrotisch, mit teilweiser Verkalkung ohne Beteiligung reaktiver Vorgänge. Das Bild ist dem Typ der Sublimatephrose ähnlich. Die Sudan-Färbung erbrachte keine anormale "Verfettung".

6. Vorversuch

Da beabsichtigt war, in den folgenden Versuchen nur mehr Ratten in der Gewichtsklasse um 150 g, andererseits weniger konzentrierte Lösung zu verwenden, erhielten im Abstand von 1 Tag:

Nr. 17 (Gew. 150 g) 2 x 1000 Mikromol in 2,0 ml Aq. dest.

Nr. 18 (Gew. 150 g) 3 x 1000 Mikromol in 2,0 ml Aq. dest.

Nr. 19 (Gew. 150 g) 2 x 1000 Mikromol in 2,0 ml Aq. dest.

Nr. 20 (Gew. 150 g) 2 x 1000 Mikromol in 2,0 ml Aq. dest.

Die Konzentration entspricht einer 16,6 %igen Lösung.

Synchron wurden 2 gleich schweren Versuchstieren Nr. 21 und 22 jeweils 2,0 ml Aq. dest. injiziert (Kontrollversuch). Nr. 17, 19 und 20 starben nach je 2 Injektionen am 3. Tage. Nr. 18 nach 3 Injektionen am 5. Tage. Nachdem Nr. 21 und 22 6 Injektionen von Aq. dest. komplikationslos vertrugen hatten, wurden sie aus dem Versuch genommen. Während der 1. Stunde nach der Injektion schieden Nr. 19 und Nr. 20 1,3 bzw. 1,6 ml klaren, rostbraunen Harns, mit einer Reaktion von pH 6,0 bzw. 5,8 aus, der aber nicht pathologisch verändert war. Die Harnmenge stieg während der folgenden 8 Stunden auf über 13,0 ml an. pH 5,8 bzw. 6,0, spezifisches Gewicht 1020, Eiweiß 200 mg %, Zucker 1/4 bis 1/2 g %. Neben zahlreichen runden Nierenzellen, mittelgradige Zylindrurie, Erythrozyten und Leukozyten in gleicher Menge wie Plattenepithelien. Der folgende 18 Stunden-Harn fiel auf 1,5 ml wässrigen, gelblich bis rostbraunen Urins ab. Reaktion jeweils pH 5,4, Protein je 200 mg %, Spuren, bzw. 1/4 g % Zucker, Sediment normal. Nach der 2. Injektion trat völlige Anurie ein. Bei der Sektion waren die Organe von Nr. 17 unverändert, die Nieren jedoch hell mit punktförmigen weißen Tüpfchen übersät. Dasselbe Nierenbild bei normalfarbener Leber demonstrierte Nr. 18 am 5. Tage. Vor

dem exitus war das Bewußtsein stark herabgesetzt. Das Tier zitterte stark. Der Reststickstoff von Nr. 18, der postmortal am Bruthöhlenplasma ermittelt wurde, lag unter 15 mg % Harnstoff. Ähnlich war das Sektionsbild von Nr. 9, deren Urastratwert 32,1 mg % ergab. Makroskopisch o.B., abgesehen von dem identischen Nierenbild, war auch Nr. 20, Urastrat 48,2 mg %.

Histologischer Befund: Nr. 17, 18, 19 und 20 wurden Leber und Niere lebenswarm entnommen, formalinfixiert und entweder zu Paraffin- (Nr. 19 und 20) oder zu Gefrierschnitten verarbeitet. Die Nieren aller vier Ratten wiesen ein annähernd identisches Bild auf: Die wandständigen Zellen der Tubuli contorti und des absteigenden Schenkels der Henle'schen Schleife ließen intrazelluläre Vakuolisierung erkennen. Die Zellkerne sind in allen Stadien der Degeneration, also den Karyopyknose, Karyorhexis und Karyolyse anzutreffen. Teilweise ist völliger Kern- und Zellverlust eingetreten, so daß ganze Wandabschnitte frei von den zugehörigen Zellen sind. Die Lumina der Tubuli sind mit homogenen Eiweißsubstanzen, mit Zylindern angefüllt. Die Glomeruli sind etwas kernreicher als normal, ansonsten aber nicht verändert. Reaktiv-entzündliche Erscheinungen mit vereinzelter Ansammlung lympho-histiozytärer Elemente sind nur bei Nr. 19 zu beobachten, die aber nicht zwingend auf die Tiron-Gabe zurückzuführen sind. Es liegt also eine akute hochgradige Tubulonephrose bei allen vier Tieren vor, die ihre stärkste Ausprägung bei Nr. 19 erfahren hat. Das Färbungsbild der Zellkerne der Leberschnitte ist nicht einheitlich. Teilweise haben sie die Farbe stärker, teils schwächer angenommen. In einigen wenigen Bezirken sind sie zusammengeklumpt. Die Zellgrenzen sind leicht verschwommen. Selten ist intrazellulär eine Vakuolenbildung aufgetreten. Auch hier sind also, wenn auch in ungleich geringerer Massierung (am deutlichsten noch bei Nr. 20) Zeichen einer akuten Degeneration ausgeprägt.

Faßt man die Vorversuche, die vom 3.11.63 bis zum 17.3.1964 abgewickelt wurden, zusammen, so ist festzuhalten:

Werden weiblichen Ratten im Gewicht von 150 g 2mal im Abstand von 1 Tag je 1000 Mikromol einer 16,6 %igen Lösung Tiron i.p. verabreicht, so tritt, wie die histologischen Befunde gestützt von Laboratoriumsuntersuchungen nahelegen, auf Grund einer akuten Tubulonephrose der Tod der Tiere ein.

B. Hauptversuche

Die Hauptversuche sollten in 3 unterschiedlichen Versuchsanordnungen Aufschluß darüber geben, ob Revitorgan-Präparate verschiedener Organherkunft gegenüber einer akuten Tubulonephrose therapeutisch wirksam sind. Als Indikator diente im wesentlichen die Absterberate im Vergleich zu Kontrolltieren. Die Letalitätsziffer stellt zwar an ein Therapeutikum hohe Anforderungen hinsichtlich des Wirkungskoeffizienten, ist aber gegenüber anderen Prüfungsmethoden gerade durch ihre Einfachheit ebenso spektakulär wie überzeugend. Als Schemata für die Versuchsanordnung wurde eine Empfehlung NEUMANN's (40) aufgegriffen, die bei den einzelnen Versuchsreihen skizziert wird.

An Revitorgan-Präparaten wurden verwendet:

Nr. 63 Niere, Herz, Aorta, Leber, Milz, Pankreas, Nebenniere und Schilddrüse enthaltend,

Nr. 7 Niere (Fetenorgan),

Nr. 71 fetalen Anteil der Plazenta enthaltend. Die Trockensubstanz wird vor der Injektion in einem Lösungsmittel (Stärke II), welches sich aus Aluminiumhydroxyd und Kieselsäure zusammensetzt, durch wiederholtes Aufziehen mit der Spritze zum Teil gelöst, zum Teil aufgeschwemmt. Es wurde darauf geachtet, daß die korpuskulären Bestandteile gleichmäßig an alle Tiere verteilt wurden. In allen Versuchsreihen erfolgte die Applikation subcutan in die Kniefalte.

1. Hauptversuch

Nach dem Schema (A): Noxe durch Tiron + gleichzeitiger Therapieversuch mit Revitorgan ---- Absterberate, erhielten 3 weibliche, ca. 150 g schwere Versuchsratten (Nr. 21, 22, 23) je 1000 mikromol der 16,6 %igen Tironlösung. Gleichzeitig bekamen sie je 0,4 ml Revitorgan Nr. 63. Die Dosierung der Zellpräparate wurde in Anlehnung an die Arbeiten von FISCHER (11) und BERNIS (3) gewählt. Die 3 Kontrolltiere, ebenfalls 150 g schwer, erhielten je 1000 mikromol Tiron i.p.

Generell entstammen Versuchs- wie Kontrolltiere einer einheitlichen Zucht und werden unter denselben Bedingungen gehalten. Am Morgen des 2. Tages post injectionem liegen Versuchstier Nr. 21 und 22 tot in ihren Käfigen. Die Totenstarre ist bei beiden Tieren noch nicht eingetreten. Die Sektion von Nr. 22 ergibt den Verdacht einer Fettleber. Von den Kontrolltieren ist Nr. 24 gestorben, auch hier ist die Leber etwas heller als normal. Das verbleibende

Versuchstier Nr. 23 und die Kontrolltiere Nr. 25 und 26 erhielten eine 2. Injektion Tiron (1000 Mikromol in 2,0 ml Aq. dest.). Tags darauf wurden alle 3 Tiere totenstarr aufgefunden. Der Sektionsbefund war unauffällig.

2. Hauptversuch

Nach dem Schema (B): prophylaktische Zellinjektion durch Revitorgan ---- Noxe mit Tiron ---- Absterberate, erhielten 10 Tiere (150 g schwer) je 0,4 ml Revitorgan Nr. 63, 10 Tiere je 0,4 ml Revitorgan Nr. 7, 10 Ratten wurden zur Kontrolle herangezogen. Revitorgan wurde 2 Tage vor Tiron verabreicht. Am 4. Versuchstag, also 1 Tag nach der Tironinjektion, waren 10 mit Revitorgan 63, 9 mit Revitorgan 7 vorbehandelte Ratten und 9 Kontrollen am Leben. Am 5. Versuchstag, 1 Tag nach der 2. Tironinjektion, lebten noch 3 Versuchstiere, die Revitorgan 63 und 2, die Revitorgan 7 erhalten hatten, von den Kontrolltieren überlebten 3. Eine 3. Tironapplikation am 7. Versuchstage führte zum Tod eines Kontrolltieres und der restlichen Versuchstiere, ausgenommen 2 der Serie Revitorgan Nr. 63 (Tabelle 1 und 2). Um eine mögliche Verletzung durch die Injektion mit Todesfolge festzustellen, wurde bei jedem eingegangenen Tier eine Sektion vorgenommen. Das aus den Vorversuchen gewonnene, anatomisch-pathologische Bild wurde bestätigt. Bei 2 Versuchstieren der Serie Revitorgan Nr. 7 und einem der aus der Reihe Revitorgan Nr. 63 lag der Verdacht einer Fettleber nahe. Bei 2 noch lebenswarmen Kontrolltieren wurde der Rest-N-Wert (Urastrat GÖDECKE) zu 42,8 mg % bzw. 155,2 mg % Harnstoff ermittelt. Bei einem Versuchstier, das mit Revitorgan Nr. 63 behandelt worden und am 6. Versuchstage gestorben war, belief sich der Rest-N-Wert auf 85,6 mg % Harnstoff. 4 Ratten, Nr. 30, 31, 32 und 33 wurden unmittelbar nach der Tironverabreichung in den Stoffwechselkäfig gesetzt und deren Harn gewonnen, 4 Stunden später entnommen und der Untersuchung zugeführt. In der Reihenfolge der Tiere ergaben sich folgende Werte: 3,5 ml, wässrig, rostbraun, homogen getrübt. 4,0 ml, wässrig, leicht rötlich, homogen trüb. 4,0 ml homogen trüb, rostbraun. 1,0 ml einheitlich getrübt, rostfarben.

Reaktion: pH 6,7; 7,9; 6,7; 6,4.

Zucker: 1/10 g %; 1/10 g %; 1/4 g %; neg.

Haemoglobin, Aceton und Bilirubin waren bei allen negativ.

Sediment: Nr. 30: Plattenepithelien ++, runde Epithelien +, Erythrozyten +, Leukozyten ++, granulierten Zylinder +.

Nr. 31: Plattenepithelien ++, runde Epithelien +, Erythrozyten +, Leukozyten +, Zylinder neg.

TABELLE 1

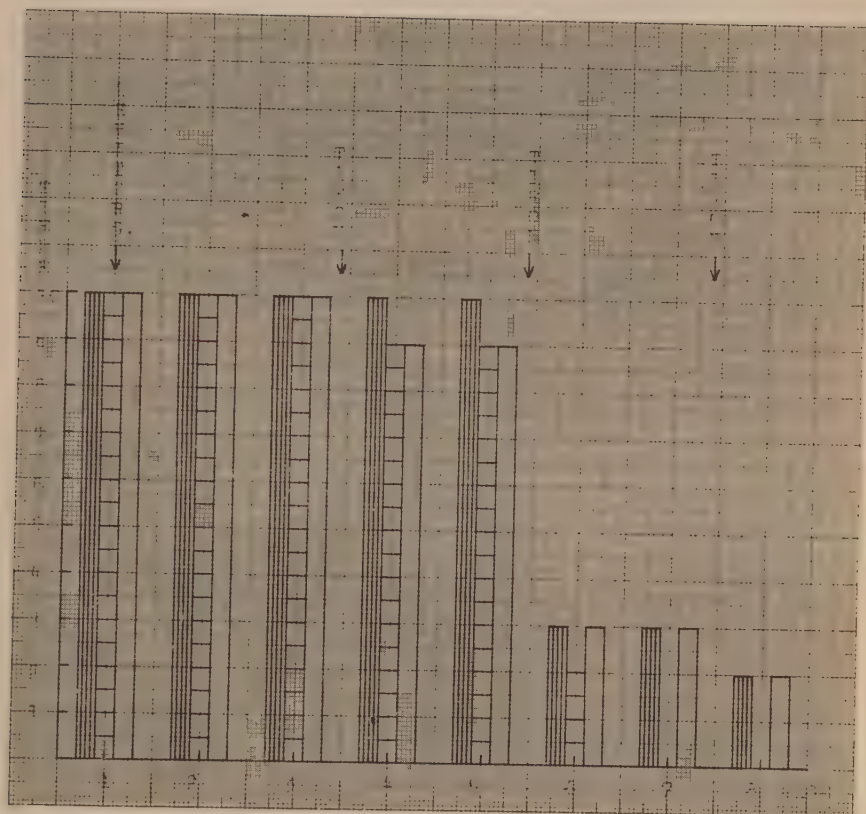


TABELLE 2

HAUPTVERSUCH Nr. II			
Überlebensrate			
Präparate Nr.	63	7	KONTR.
Tierzahl	10	10	10
Nach 1. Injekt.	10	9	9
Nach 2. Injekt.	3	2	3
Nach 3. Injekt.	2	-	-

Nr. 32: Plattenepithelien ++, runde Epithelien +, Erythrozyten +, Leukozyten +, einzelne granulierte Zylinder

Nr. 33: Plattenepithelien +, runde Epithelien +, Erythrozyten +, Leukozyten +, granulierte Zylinder +.

Die Werte des folgenden 15-Stunden-Harns (Nachtharn) lauteten:

7,0 ml, wässrig klar, Stich ins Rötliche.

5,0 ml, wässrig klar, leicht rötlich.

8,0 ml, wässrig klar, hellgelb.

2,5 ml, normalfarben, klar.

Spezifisches Gewicht: 1030, 1030, 1025, nicht meßbar.

Eiweiß: 100 mg %, 30 - 100 mg %, 300 mg %, 100 mg %.

Zucker: 1/4 g %, 1/4 g %, 1/4 g %, negativ.

Haemoglobin, Aceton und Bilirubin waren negativ.

Sediment: Nr. 30: Detritus +, Plattenepithelien +, runde Epithelien +, Erythrozyten (+), Leukozyten (+), Zylinder neg.

Nr. 31: Detritus +, Tripelphosphat ++, Plattenepithelien +, runde Epithelien +, einzelne Erythrozyten, Leukozyten +, granulierte Zylinder +.

Nr. 32: Plattenepithelien +, einzelne runde Epithelien, einzelne Erythrozyten, Leukozyten +, Zylinder neg.

Nr. 33: Tripelphosphat +++, Plattenepithelien +, runde Epithelien +, Erythrozyten (+), Leukozyten (+), granulierte Zylinder +.

Der 24-Stunden-Harn vom 4. auf den 5. Versuchstag, also vor der 2. Tiron-Injektion, ergab folgenden Status:

6,5 ml, wässrig, zitronengelb, fast klar.

8,0 ml, wässrig, zitronengelb, leicht neblig.

9,0 ml, hellgelb, fast klar.

3,2 ml, normalfarben, klar.

Reaktion: pH 6,2; 9,0 (der auffällig alkalische Wert dürfte auf bakterielle Zersetzung zurückzuführen sein, da sich im Sediment sehr starker Bakterienbefall äußerte). 6,8; 6,6.

Eiweiß: 30 mg %; über 1000 mg %; 300 mg %; 300 mg %.

Zucker: neg., 1/4 g %, 1/4 g %, neg.

Haemoglobin, Aceton und Bilirubin waren bei allen negativ.

Sediment: Nr. 30: Tripelphosphat +++, Plattenepithelien +, Erythrozyten (+), Leukozyten (+), keine runden Epithelien und Zylinder.

Nr. 31: Plattenepithelien +, einzelne Erythrozyten, keine Leukozyten, keine Rundepithelien und Zylinder.

Nr. 32: Tripelphosphat +++, Plattenepithelien +, einzelne Leukozyten und Erythrozyten. Keine Nierenzellen oder Zylinder.

Nr. 33: Tripelphosphat ++, Plattenepithelien ++, einzelne Erythrozyten, keine Leukozyten, einzelne Zylinder.

Nach der 2. Tiirongabe wurde der folgende 12-Stunden-Harn gewonnen, d. h. der Harn vom 5. auf den 6. Tag. Alle 4 Tiere wurden am Morgen des 6. Tages tot aufgefunden. Die Werte betragen:

0,3 ml, rosafarben, wässrig, klar.

2,0 ml, Stich ins Rötliche, klar.

3,0 ml, bräunlich, klar.

4,0 ml, rötlich, leichte Wolkenbildung.

Das spezifische Gewicht war infolge der geringen Harnmenge nicht zu ermitteln.

Reaktion: pH 7,0; 7,0; 7,5; 6,2.

Eiweiß: 0 - 30 mg %, 30 mg %, 30 mg %, 30 mg %.

Alle übrigen Werte waren negativ.

Sediment: Nr. 30: Plattenepithelien +, einzelne Erythrozyten, Leukozyten neg., Zylinder und Rundepithelien neg.

Nr. 31: Tripelphosphat +++, Plattenepithelien +, einzelne Erythrozyten und Leukozyten, keine runden Epithelien oder Zylinder.

Nr. 32: Tripelphosphat +, Plattenepithelien +, Erythrozyten +, Leukozyten vereinzelt. Keine Rundepithelien und Zylinder.

Nr. 33: Tripelphosphat +, Plattenepithelien +, einzelne Erythrozyten, Leukozyten (+), Zylinder neg.

Der Serum-Hamstoffwert (Urastrat) belief sich bei Nr. 31 auf 42,8 mg %, bei Nr. 32 auf 74,9 mg %. Bei 3 Tieren Nr. 30, 31 und 32 wurden Leber und Niere der histologischen Untersuchung zugeführt. Die aus den Vorversuchen bekannten typischen, degenerativen Veränderungen traten auch hier auf. Zu der hochgradigen Tubulonephrose kamen bei Nr. 31 am Übergang von der Nierenrinde zum Mark vereinzelt Verkalkungsherde hinzu. Die Leber ist durch mittelgradigen Zellzerfall mit geringer Reaktivierung charakterisiert. Weniger hochgradig ausgeprägt sind die Nephrose-Erscheinungen bei Nr. 30, größere Abschnitte der Niere erscheinen hier intakt, gleichwohl sind andere Abschnitte durch starken Zellkernzerfall und Eiweiß-Auskittung der Tubuli gekennzeichnet. Das Interstitium ist ebensowenig wie die Leber aktiviert. Eine gewisse Diskrepanz scheint zwischen dem massiven, histologischen Befund und dem Harnstatus zu liegen. Zu erwarten wäre eine größere Anzahl granulierter Zylinder. Das Auftreten von Rundzellen deutet eigentlich auf ein Entzündungsgeschehen hin, das indes histologisch nicht bestätigt werden kann. Die intensive Veränderung der Tubuli dürfte dafür verantwortlich sein, daß es zu einer Formung

von Zylindern nicht mehr kommen kann. Der entscheidende diagnostische Hinweis sollte demnach im Eiweißwert liegen. Das Auftreten roter Farbnuancen im Ham ist wahrscheinlich auf eine Komplexbildung zwischen Tiron und Eisen zurückzuführen.

Das histologische Bild, gestützt vom Hamstatus, läßt nicht den Schluß zu, daß zwischen den mit Revitorgan Nr. 63 behandelten Tieren und den Kontrollen im Grade der Nierenveränderungen ein wesentlicher Unterschied bestehe. Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, überlebten in dem Versuch, wo 2 Tage vor der Noxe eine Revitorgan-Behandlung erfolgte, etwa ebensoviele Tiere die zweimalige Injektion von Tiron im Abstand von 1 Tag. Die 3. Injektion verschiebt allerdings das Verhältnis etwas zu Gunsten der mit Revitorgan Nr. 63 behandelten Tiere (Tabelle 3 und 4).

3. Hauptversuch

Die Versuchsanordnung ist im Prinzip dieselbe wie im Hauptversuch 2, mit dem einen Unterschied, daß die Revitorgan-Verabreichung 4 Tage vor der Intoxikation erfolgte. Jeweils 10 Tiere erhielten wiederum 0,4 ml Revitorgan Nr. 63 bzw. Revitorgan Nr. 7 sc. 10 Tiere wurden in die Kontrollgruppe eingereiht. Das Gewicht betrug einheitlich zwischen 150 und 160 g pro Tier. An Tiron wurden jeweils 1000 Mikromol in 2,0 ml Aq. dest. (16,6 %ige Lösung), i. p., 3 x im Abstand von 1 Tag injiziert. Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, überlebten die 1. Injektion 10 mit Revitorgan Nr. 63, 9 mit Revitorgan Nr. 7 vorbehandelte Versuchstiere gegenüber 9 Kontrollen. Die 2. Injektion hatte den Tod von 7 Revitorgan Nr. 63 bzw. 5 Revitorgan Nr. 7 Tieren zur Folge, die ebenso wie 5 Kontrollen tags darauf tot aufgefunden wurden. Die 3. Injektion wurde von 2 Kontrollen und je 3 Revitorgantieren überstanden. Unter Berücksichtigung der biologischen Varianz ist der 3. Hauptversuch dem 2. Versuch gleichzusetzen.

4. Hauptversuch

In diesem und dem anschließenden Versuch wurde der Injektionsmodus nach dem folgenden Schema (C) geändert:

Leichte Organschädigung ---- Zellinjektion ---- Wartezeit ---- schwere Noxe ---- Absterberate.

40 weibliche Versuchstiere, im Gewicht zwischen 150 und 160 g wurden zu-

TABELLE 3

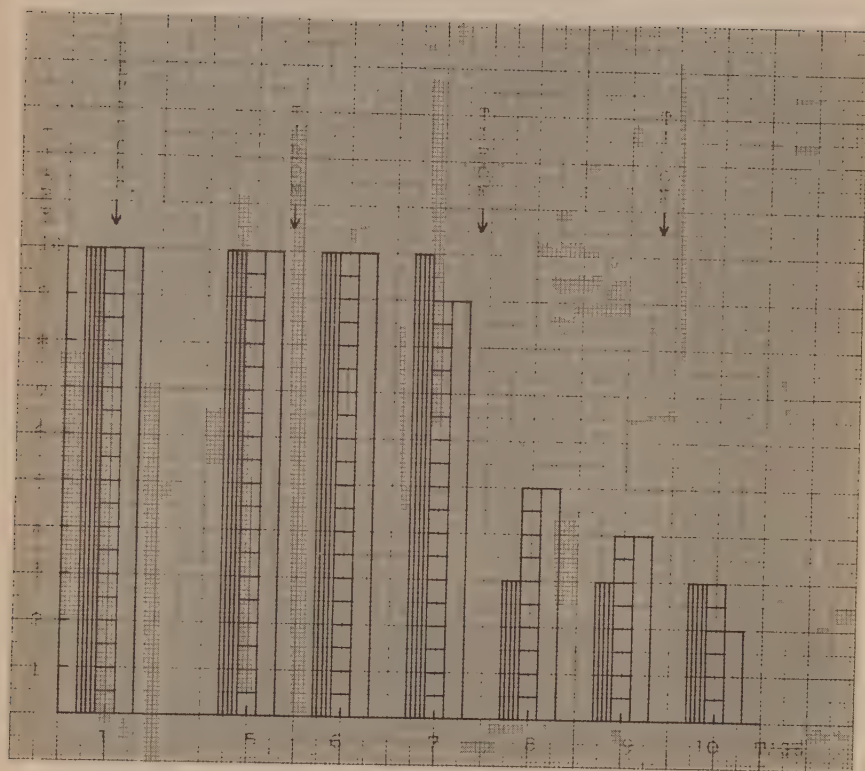
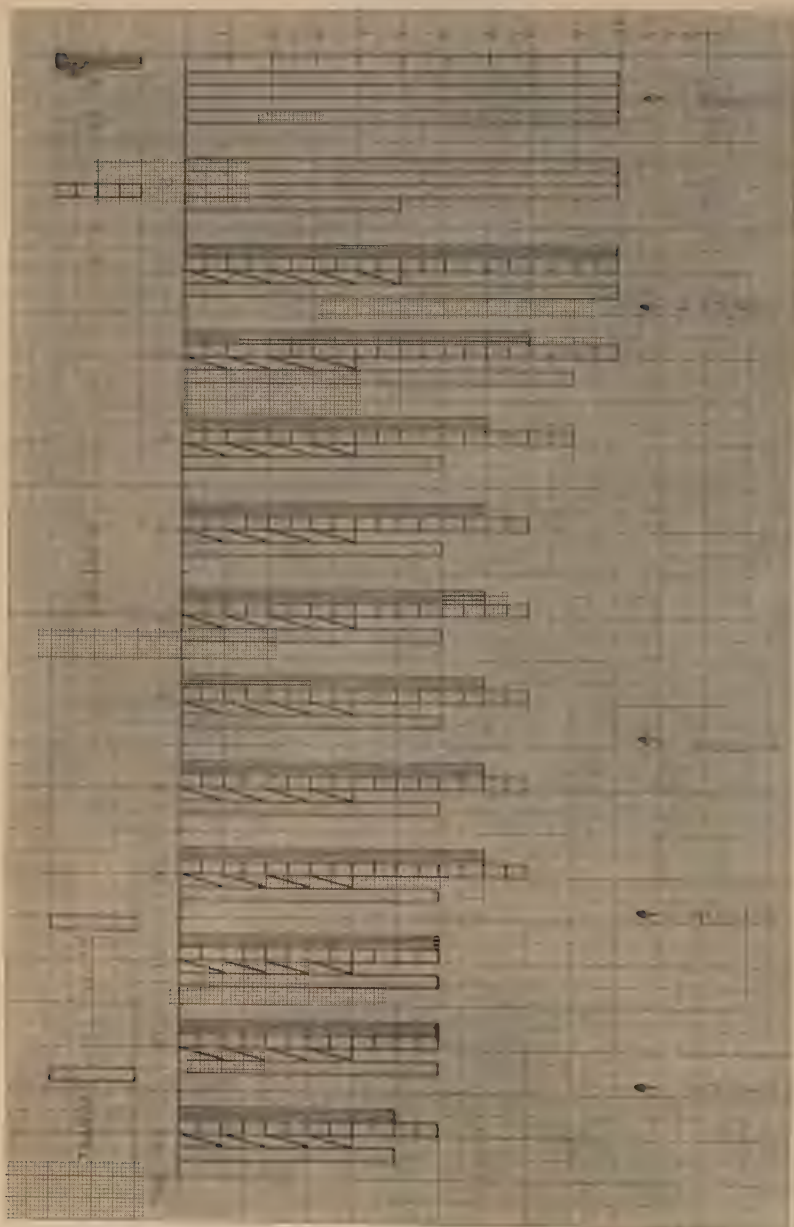


TABELLE 4

HAUPTVERSUCH Nr. III			
Überlebensrate			
Präparat Nr.	63	7	KONTR.
Tierzahl	10	10	10
Nach 1. Injekt.	10	9	9
Nach 2. Injekt.	3	4	4
Nach 3. Injekt.	3	3	2

T A B E L L E 5



nächst mit 1 Injektion von je 1000 mikromol Tiron in 2,0 ml Aq. dest. (16,6 %ige Lösung) geschädigt. Am Tag darauf waren noch 35 Tiere am Leben. Sie wurden in 4 Gruppen eingeteilt. Gruppe I, die Kontrollgruppe, umfaßt 10 Tiere. Gruppe II mit 10 Tieren, erhielt 2 Tage nach der 1. Tironinjektion Revitorgan Nr. 63, pro Tier 0,4 ml sc., ebenso Gruppe III zu 10 Tieren, je 0,4 ml Revitorgan Nr. 7. In die IV. Gruppe wurden die restlichen 5 Tiere aufgenommen, die jeweils 0,4 ml Revitorgan Nr. 71 injiziert bekamen. Tags darauf waren aus Gruppe I und IV 1 Tier, aus Gruppe II 2 Tiere gestorben. 4 Tage nach Versuchsbeginn waren aus Gruppe I noch 6 Tiere, aus Gruppe II 7, aus Gruppe III 9 und aus Gruppe IV 4 Tiere am Leben. Am folgenden Tag starb 1 weiteres Tier aus Gruppe III.

Eine Woche nach Versuchsbeginn (bzw. nach einer Wartezeit von 5 Tagen) wurden die verbliebenen Kontroll- und Versuchstiere mit Tiron geschädigt. Im Abstand von 2 Tagen erfolgten die 2. und 3. Tironinjektion. 12 Tage nach Versuchsbeginn lebten von den Kontrollen noch 5 Tiere, ebenfalls 5 aus Gruppe II (Revitorgan 63), 6 aus Gruppe III (Revitorgan 7) und 4 aus Gruppe IV (Revitorgan 71). (Tabelle 5 und 6)

5. Hauptversuch

Um die Verlustziffer durch die 1. Tiron-Dosis, wenn möglich, gleich null zu halten, war beabsichtigt, nur die Hälfte der üblichen Menge zu injizieren. Ausgewählt wurden wiederum 40 weibliche Ratten, dieses Mal aus verschiedenen Gewichtsklassen. Jede der 4 Gruppen (Revitorgan Nr. 63, Nr. 7, Nr. 71 und Kontrollen) umfaßte je 2 Tiere im Gewicht von 160 - 170 g, 4 Tiere von 150 - 160 g, 3 Tiere von 130 - 140 g und je 1 Tier von 120 - 130 g. Den Bezugspunkt bei der Berechnung der benötigten Dosis Tiron bildete ein angenommenes Gewicht von 150 g mit der üblichen Menge von 1000 mikromol in 2,0 ml Aq. dest. Der Gewichtsklasse entsprechend erhielten sie zunächst die Hälfte i. p. injiziert. Todesfälle traten nicht ein. Am 3. Tag post injectionem erhielten, abgesehen von den 10 Kontrollen, alle Versuchstiere einheitlich je 0,4 ml der Revitorgan-Präparate sc. Nach einer Wartezeit von 3 Tagen erfolgte bei allen Tieren die Tiron-Injektion, diesmal in der vollen Höhe der errechneten Dosis. Vorher wurde das Einzelgewicht mit einer Genauigkeit von ± 1 g festgehalten. Tags darauf war der Tod bei je 1 Tier aus der Kontrollgruppe, der mit Revitorgan 7 und der mit Revitorgan 71 behandelten Tiere. Am folgenden Tag wurde die 2. Tiron-Intoxikation vorgenommen, die zum Tode von 2 Revitorgan Nr. 63 Tieren, 6 Revitorgan Nr. 7 Tieren, 3 Revitorgan Nr. 71 Tieren und 3 Kontrollen

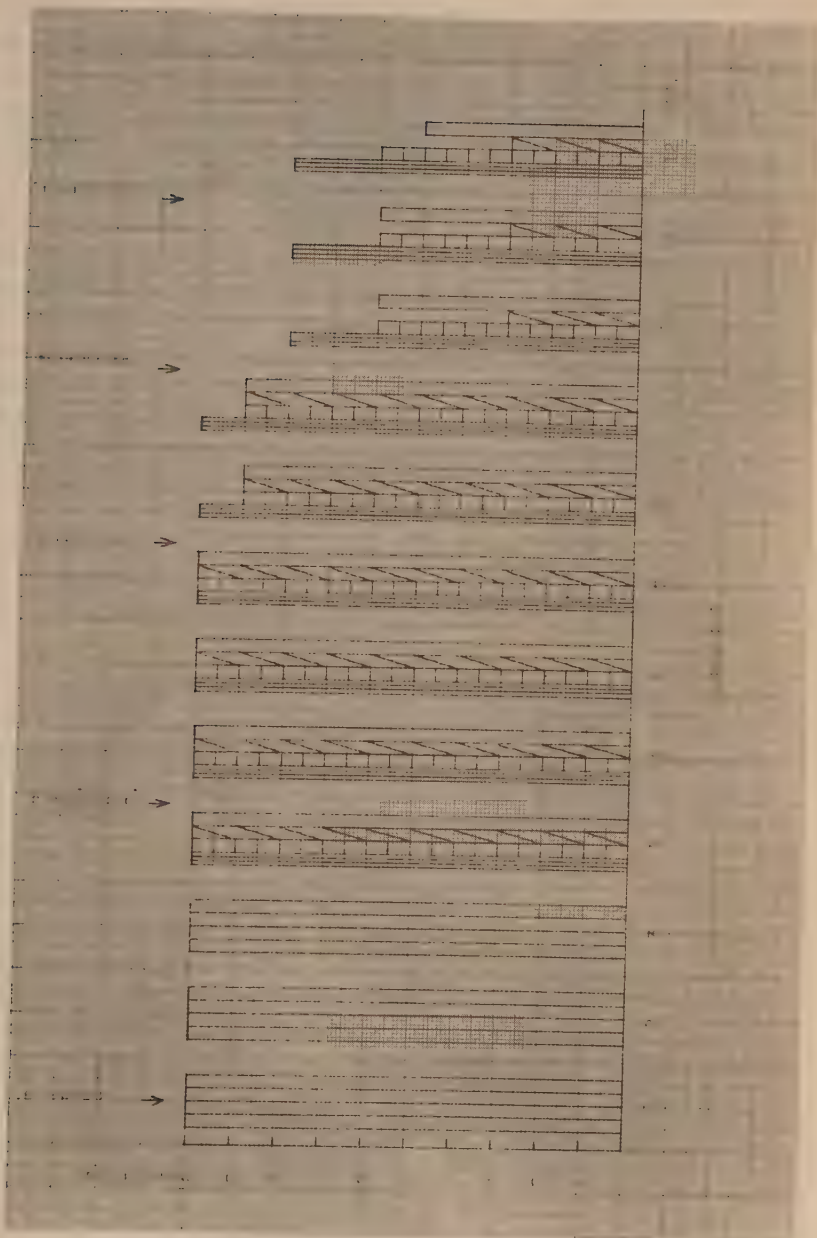
TABELLE 6

HAUPTVERSUCH Nr. IV				
Überlebensrate				
Präparat Nr.	63	7	71	KONTR.
Tierzahl	10	10	5	10
Nach 1. Injekt.	7	8	4	6
Nach 2. Injekt.	6	6	4	6
Nach 3. Injekt.	5	6	4	5

TABELLE 7

HAUPTVERSUCH Nr. V				
Überlebensrate				
Präparat Nr.	63	7	71	KONTR.
Tierzahl	10	10	10	10
Nach 1. Injekt.	10	9	9	9
Nach 2. Injekt.	8	3	6	6
Nach 3. Injekt.	7	3	6	5

TABELLE 8



führte. Durch eine 3. Injektion schließlich kam je 1 Tier aus der Revitorgan Nr. 63 - und der Kontroll-Gruppe um. Die Tironinjektion erfolgte jeweils im Abstand von 1 Tag. Im Habitus war kein Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrolltieren erkennbar. Gestorbene Tiere wurden seziert. Generell fielen blasse Nieren auf, unabhängig von der Vorbehandlung. Von wenigen Fällen abgesehen, in denen der Verdacht einer fettigen Entartung vorlag, waren Leber, wie übrige Organe, makroskopisch unverändert.

6 Tage nach der 1. Wägung wurde eine Gewichtsbestimmung der überlebenden Tiere vorgenommen. Ein Tier, das an starker Enteritis litt und infolgedessen viel an Gewicht verloren hatte (Revitorgan Nr. 63), wurde nicht mit herangezogen. Den größten Gewichtsverlust verzeichnete die mit Revitorgan 7 behandelte Gruppe mit durchschnittlich 20,0 g pro Tier. Ihr folgte die Kontrollgruppe mit 18,8 g. Die Gruppe der Revitorgan 63 Tiere nahm im Schnitt 13,6 g ab und am wenigsten die Revitorgan Nr. 71 Gruppe mit 10,6 g je Tier. (Tabelle 7 und 8)

IV. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die in den Vorversuchen erarbeitete Methode, mit zwei Injektionen von Tiron den Tod der Versuchstiere herbeizuführen, war in den Hauptversuchen nur mit Einschränkungen reproduzierbar. Der Grund hierfür dürfte einerseits in nicht immer konstant zu haltenden Umweltseinflüssen, der individuell variierenden Vitalität, andererseits und vor allem in der größeren Zahl von Versuchsobjekten zu suchen sein. Hieraus geht einmal mehr hervor, wie sehr die "kleine Zahl" von Fehlerquellen, was gleichbedeutend mit Fehlschlüssen ist, belastet sein kann. OETZMANN (44), der von seinen Erfahrungen bei der Behandlung der Leberzirrhose mit Trockenzellen aus klinischer Sicht berichtet, gibt zu bedenken, daß bei weit fortgeschrittenen dekompensierten Zirrhosen der mit den Zellen einhergehende Stress das Krankheitsbild verschlechtern kann. Im Sinne einer Stress-Belastung dürfte Hauptversuch 1 zu werten sein, wo die Versuchstiere früher als die Kontrollen ad exitum kamen. Die Aussage erfährt allerdings durch die Zahl von nur 6 Tieren, die dem Experiment unterzogen waren, eine erhebliche Einschränkung. Jedenfalls legte das Ergebnis nahe, einen anderen Versuchsmodus heranzuziehen (Hauptversuch 2 und 3).

Weder die Letalitätsziffer, auch wenn im Hauptversuch 3 die Zahl der überlebenden Revitorgan behandelten Tiere um je eines überwiegen, noch der vergleichende histologische Befund lassen den Schluß auf eine überzeugende prophylaktische Organellenwirkung zu. Es sei betont, daß damit nur eine "lebensrettende" Funktion von Zellen negiert wird. Erklärbar wäre eine derartige Wirkung nur über zwei Mechanismen:

- 1) Das schädigende Agens wird neutralisiert und verliert so seine Toxizität. Eine Wirkung, die man Zellen, wie früher erwähnt, nur in Sonderfällen zuschreiben kann, oder
- 2) die Regenerationsfähigkeit des Organismus wird derart intensiv aktiviert, daß zwischen zwei Toxin-Gaben das Erfolgsorgan zur Ausheilung kommt, wodurch die Noxe gewissermaßen jeweils auf ein gesundes Objekt stößt.

Die Voraussetzungen für eine Regeneration liegen im Falle der toxischen Tubulonephrose sehr günstig, da nach LOSSE (31) die Basalmembran des Tubulusepithels völlig intakt bleibe.

Ist auch dieser Wirkungsmechanismus einleuchtender, so ist der Zelleffekt offensichtlich nicht so durchschlagend, daß sich ein überzeugender Erfolg ab-

zeichnet. Im Prinzip decken sich die Versuchsergebnisse mit denen NEUMANN's (40), die in anderer Indikationsstellung, nämlich bei experimentellen Leberschädigungen angestellt wurden. NEUMANN faßt zusammen, daß keine Hinweise auf eine prophylaktische Wirkung von Zellinjektionen erbracht worden seien, was durchaus einleuchte, da eine optimale Organfunktion durch Gewebsinjektion nicht weiter verbessert werden kann. Nach NEUMANN sei die Zellulärtherapie bisher zu keinem Zeitpunkt als Antidot für akute Vergiftungsschäden empfohlen worden. Daß die Problematik noch einer endgültigen befriedigenden Lösung bedarf, bestätigen die Arbeiten von FISCHER (11) und BERNIS (3).

Die praktischen Ergebnisse und theoretischen Überlegungen ließen eine neue Versuchsanordnung entstehen (Hauptversuch 4 und 5), die sowohl praxisnäher als auch erfolgversprechender erschien. Wie die Tabellen aber zeigen, scheint kein Hinweis für einen signifikanten Erfolg vorzuliegen. Nur Revitorgan Nr. 63 (Hauptversuch 5) und in Grenzen Revitorgan Nr. 7, lassen eine Wirkung erkennen, die aber durch Hauptversuch 4 in Frage gestellt wird. Entscheidende Funktion muß demnach dem Zeitraum zwischen Zellgabe und folgender Intoxikation, also der Wartezeit zugesprochen werden. In Hauptversuch 4 betrug sie 5 Tage gegenüber 3 im Versuch 5. Auch die "cytoplasmatische" Therapie nach THEURER scheint eine gewisse Anlaufzeit bis zum vollen Wirkungseintritt zu benötigen. Es wäre interessant, die "Wartezeit" noch weiter auszuweiten und ihren Effekt auf die Letalitätsziffer zu prüfen, was allerdings nicht Gegenstand vorliegender Untersuchung war.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Zu dem Problem, Zellpräparate bei der akuten toxischen Tubulonephrose, wird experimentell, hauptsächlich durch Bestimmung der Letalitätsziffer, Stellung genommen. An insgesamt 155 weiblichen Ratten wird eine akute Tubulonephrose erzeugt durch eine Substanz, deren nephrotoxische Eigenschaften bislang nicht bekannt waren. Verschiedene Organvollsubstanzen nach THEURER werden in variierten Versuchsanordnungen auf ihren Effekt hin geprüft.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Aristoteles: Hauptwerke S. 39
Alfred Kröner Verlag, Stuttgart
- 2) Bernhard P. und Krampitz W.: Die organspezifische Zellwirkung der Implantation von Kaninchenendometrium auf den Uterus kastrierter Kaninchen.
Zellforschung und Zellulartherapie.
Hrsg. Schmid F., Stein J.
Medizin. Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart (1963)
- 3) Berns, S.: Untersuchungen zur Wirkung einer zellspezifischen Substanz auf die experimentell geschädigte Rattenleber.
Diss. med. vet., München (1962)
- 4) Billingham R. E., Brent L. und Medawar P. B.:
Nature 178, S. 514 - 519 (1956)
- 5) Catch A. und Melchinger H.: Untersuchungen über therapeutische Möglichkeiten bei Vergiftungen mit radioaktiven Spaltprodukten.
V. Mitteilung. Strahlentherapie 108, S. 63 - 72 (1959)
- 6) Cater D. B. and Peters R. A.: The occurrence of renal changes, resembling nephrosis, in rats poisoned with fluorocitrate.
British J. of exper. Path. 42, S. 278 - 289 (1961)
- 7) Dittmar F.: Der Einfluß von Zellpräparaten auf Wachstum und Körpergewicht im Tierversuch.
Zellforschung und Zellulartherapie, S. 397
- 8) Duff G. L.: Amer. J. med. Science 210, S. 381 (1945)
- 9) Dulaney und Mitarb.: Cancer Research 9, S. 217 (1949)
- 10) Ehrich W. E., Forman C. W. and Seifer J.:
Arch. Path. 54, S. 463 (1952)
- 11) Fischer, G.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung zellspezifischer Substanzen auf die experimentell geschädigte Rattenleber.
Diss. med. vet., München (1960)

- 12) Frenk S., Antonowicz I., Craig J.M., Metcoff J.:
Proc. Soc. exp. Biol. New York 89, S. 424 (1955)
- 13) Frölich Ch. und Prokop O.: Med. Okkultismus,
Hrsg. O. Prokop, Berlin.
Fischer - Verlag, Jena (1962)
- 14) Gilman A., Allen R.P., Philips F.S. and St. John E.:
J. clinic., Inv. 25, S. 549 (1946)
- 15) Ginzler A.M.: Proc. Soc. exper. Biol. N. Y. 61 S. 231 (1946)
- 16) Gordonoff T.: Trockenzellen, sind sie wirksam?
Med. Welt, Nr. 44, S. 2303 (1960)
- 17) Grüber H.: Die Wirkung tierischer Trockenzellen auf den
Arsenobenzolschaden der Nieren.
Frankf. Zschr. Path. 66, S. 362 - 375 (1955)
- 18) Hecht G. und Eichholtz F.: Biochem. Zeitung 206, S. 282 - 289 (1928)
- 19) Heintz R.: Die Zellulärtherapie bei der chronischen differen-
zierten Glomerulonephritis,
Therapiewoche, 5, S. 282 - 284 (1954/55)
- 20) Heymann W. und Lund H.Z.: Science 108, S. 448 (1948)
- 21) Higuchi T. and Schroeter L.C.: Reactivity of bisulfite with a number of
pharmaceuticals.
J. Amer. pharm. Ass 48, S. 535 - 540 (1959)
- 22) Hötzl H. und Laudahn G.: Therapie mit Mitochondrien.
Ärztl. Wschr. Heft 29, S. 634 (1956)
- 23) Hohlweg W.: Die hormonale Funktion von Drüsenimplantaten.
Zeitschr. f. ärztl. Fortbildung, Heft 15/16, S. 522
(1955)
- 24) Index Merck, 9. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim (1961)
- 25) Janson Ph.: Grundlagen des Wirkungsmechanismus der Thera-
pie mit Frisch- und Trockenzellen.
Heilkunst, 6, S. 200 (1955)
- 26) Kment A.: Tierexperimentelle Revitalisierungsnachweise
nach Zellinjektionen.
Vortrag beim II. Intern. Kongreß für Zellular- und
Histotherapie, Wiesbaden, S. 40 - 53 (1959)

- 27) Kuhn W. und Knüchel F.: Medizinische Nr. 16, S. 587 - 593 (1955)
- 28) Kuhn W. und Knüchel F.: Untersuchungen über die Wirkung und den Wirkungsmechanismus von fetalen tierischen Trockenzellen.
Zeitschr. f. d. ges. exper. Medizin, Bd. 123, 4 S. 351-368
- 29) Lettré H.: Prüfung der organspezifischen Wirkung von Zellinjektionen.
Die Therapiewoche. 5. Jhrg. Heft 7/8 S. 152 (1954)
- 30) Lindeman K.: Ann. Inst. Pasteur 14, S. 49 (1900)
- 31) Losse H.: Kurzlehrbuch der Nierenkrankheiten
Friedrich-Karl Schattauer Verlag Stuttgart (1963)
- 32) Malmgren und Bennison: Journ. National Cancer Institute 11, S. 301 (1950)
- 33) Marshak D. und Walker A.C.: Science 94, S. 101 (1945)
- 34) Medawar P.B.: Ann. N. Y. Acad. Science 73, S. 539 (1958)
- 35) Miettinen R. Tatu: Hexosamine and sialic acid in the plasma and urine of the rat. Effects partial hepatectomy, ligation of the bile duct and experimental nephrosis.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 13, Suppl. 61, S. 7 - 101 (1961)
- 36) Moench A.: Der Einfluß heterologen Gewebstrockenzellen auf die experimentelle Nephritis des Kaninchens.
Bericht v. d. 2. Tagung der Forschungsgem. für Zellulärtherapie. (1955)
- 37) Moench A. und Burckhard: Über die Wirkung von Siccazell und Kaninchen-trockenserum auf die experimentelle Neosalvarsan-Nephrose der weißen Ratte. Bericht v. d. 4. Tagung der Forschungsgem. für Zellulärtherapie. S. 6-8 (1957)
- 38) Moench A.: Der Einfluß heterologer Gewebstrockenzellen auf die experimentelle Nephritis des Kaninchens.
Bericht v. d. 2. Tagung der Forschungsgem. für Zellulärtherapie 49 (1955)
- 39) Möse J.R., Wennig und Stein O.: Änderung des Heterohaemagglutinations-titers nach Injektion lyophilisierter Organzellen.
Die Medizinische Nr. 31 - 32, S. 1200 (1958)

- 40) Neumann K. : Beeinflussung experimenteller Leberschädigungen durch Gewebsinjektionen.
Zellforschung und Zellulartherapie (1963)
Med. Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart
- 41) Neumann K. : Konservierungsverfahren, Herstellung und Eigenschaften von Trockengewebe.
Zellforschung und Zellulartherapie.
Med. Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart
- 42) Neumann K. : Untersuchungen über die therapeutische Wirksamkeit von Injektionen von Nierengewebe bei experimentell erzeugter Nephrose.
Bericht v. d. 6. Tagung der Arbeitsgem. für Zellulartherapie, Bad Homburg, 1 - 3 (1957)
- 43) Nider M. : Physiolog. Review 4, S. 595
- 44) Oetzmann H.J. : Bericht v. d. 2. Tagung d. Forschungsgem. für Zellulartherapie, S. 14 - 17 (1955)
- 45) Paschkis K. E., Cantarow A., Goddard J. J. und Zagerman J. :
Fed. Proc. 17, S. 121 (1958)
- 46) Peters R. A., Stocken L. A. and Thompson R. H. S. :
Nature, London, S. 616, 156 (1945)
- 47) Pischinger A. : Schicksal und Wirkung körperfremden Gewebes im Organismus.
Die Medizinische Nr. 23, S. 767 (1953)
- 48) Pressmann D. and Eisen H. N. : J. of Immun. 64, S. 273 (1950)
- 49) Rietschel H. G. : Zur Klinik der Zellulartherapie in heutiger Sicht.
III. Intern. Kongreß f. Zellulartherapie, Paris (1961)
- 50) Rietschel H. G. : Allgemeine Betrachtungen zur Immunologie der Therapie mit Zellen und Geweben.
Zellforschung und Zelltherapie, S. 161
Verlag Hans Huber, Bern u. Stuttgart
- 51) Rietschel H. G. : Behandlung nephrotischer Zustandsbilder durch Frisch- od. Trockenzellen.
Bericht v. d. 2. Tagung der Forschungsgem. für Zellulartherapie S. 20 - 24 (1955)
Med. Klinik 50, 895-900 (1955)

- 52) Rietschel H. G.: Möglichkeiten und Grenzen der Zellulartherapie.
Münchener Med. Wschr. 97, S. 704 (1955)
- 53) Rietschel H. G.: Zellulartherapie bei Nierenerkrankungen.
Bericht v.d. 3. Tagung der Forschungsgem. für
Zellulartherapie S. 9 - 11 (1956)
- 54) Rietschel H. G.: Die Medizinische S. 1327 (1953)
- 55) Roeder K. H.: Behandlung eines Falles von chronischer Nephritis
mit hochgradiger Nephrose mit Trockenzellsubstanz
nach Dr. P. Niehans.
Med. Klinik 47, S. 1572 (1952)
- 56) Sarre H.: Formen und Therapie chron. Nierensiechtums.
Dtsch. med. Wschr. 80, 43 S. 1575 - 78 (1955)
- 57) Seeger P. G.: Über den Wirkungsmechanismus der Zellulartherapie.
Bericht v.d. 3. Tagung der Arbeitsgemeinschaft für
Zellulartherapie, Frankfurt, S. 17 - 24 (1954)
- 58) Sloan H.: Production of experimental uremia by sodium
tetrathionate.
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 76, S. 344 - 346,
Bd. 151 S. 388 (1951)
- 59) Smadel J. E.: J. of Exper. Med. 64, S. 921 (1936)
- 60) Smith H. W.: Principles of renal physiology, Oxford,
Univ. Press, N. Y. (1956)
- 61) Stein J.: Die Implantation haematopoetischer Gewebe.
Verlag Hans Huber, Bern u. Stuttgart
- 62) Stille G. H.: Zur antitoxischen Wirkung von Leberextrakten.
Arzneimittelforschung 3, S. 127 (1953)
- 63) Strehl W.: Schnellmethode der Harnstoffbestimmung mit
Urastrat Teststreifen.
Die Kleintier - Praxis, 9. Jhrg. Heft 2 S. 54
- 64) Strehler E.: Schweiz. med. Wschr. 81 (1951)
- 65) Schmid F.: Aufnahme und Verteilungsprinzip injizierter Fremd-
gewebe.
Vortrag anlässlich des III. Intern. Kongresses für
Zellulartherapie, Paris (1961)

- 66) Schmid F.: Nachweis biochemischer Substanzen in frisch entnommenen und lyophilisierten fetalen Geweben. Zellforschung und Zellulärtherapie, S. 134
- 67) Schmid F., Schuster W. und Krebs H.: Haben Frisch- und Trockenzellen eine organspezifische Wirkung? Medizinische Klinik, 26, S. 1202 - 1206 (1959)
- 68) Schmidt H.: Über innere Komplexsalze in der Medizin. Medizin und Chemie, Bd. II, S. 93 Bayer - Meister - Lucius, Leverkusen (1934)
- 69) Schubert E. v.: Ärtzl. Wschr. 40/54, S. 953 (1954)
- 70) Theurer K.: Zum Problem der Dosierung bei der sog. Zellulärtherapie und über die Notwendigkeit der quantitativen Steuerung immunbiologischer Vorgänge. Die Therapiewoche 6. Jhrg. S. 132 - 137 (1955/56)
- 71) Theurer K.: Die Spezifität von cytoplasmatischen Organsubstanzen unter besonderer Berücksichtigung solcher aus Plazenta und die isolierte Anwendung ihres maternen und fetalen Anteils. Die Therapiewoche, Jhrg. 7, S. 341 (1956/57)
- 72) Uhlenbruck P.: Zellforschung und Zellulärtherapie. Hrsg. Schmid F., Stein J. Medizin. Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart (1963)
- 73) Ullrich K.: Die Zellulärtherapie in der Tierheilkunde. Die Therapiewoche, Jhrg. 7, Heft 14/15 S. 515 (1957)
- 74) Vernier R. L., Papermaster B. W. and Good R. A.: J. exp. Med. 109, S. 115 (1959)
- 75) Vorlaender K. O., Fitting W., Gierlich G.: Der Einfluß heterologer Gewebszellen (Nierentrockenzellen nach Niehans) auf die Masugi-Nephritis der Ratte. Klin. Wschr. 32, S. 1065 (1954)
- 76) Weese: Deutsche med. Wschr. S. 408 (1932)
- 77) Wiegand: Zit. nach Schmidt H. in Medizin und Chemie, Bd. II, S. 96 Bayer - Meister - Lucius, Leverkusen (1934)

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Ullrich für die Überlassung des Themas, die äußerst aufgeschlossene und verständnisvolle Betreuung und nicht zuletzt für das erfreuliche Arbeitsklima des Hauses zu danken.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Professor Dr. Walter und Herrn Priv. Doz. Dr. Weiß für die Anfertigung histologischer Präparate.

L e b e n s l a u f

Als Sohn des Tierarztes Karl Zoller und seiner Ehefrau Amalie, geb. Zobl, wurde ich am 2. Februar 1937 in Tannheim/Tirol geboren.

Nach dem Besuch von fünf Klassen Volksschule in Altenmarkt/Alz und Grassau trat ich 1948 in das Humanistische Gymnasium Metten ein, wo ich 1957 die Reifeprüfung absolvierte.

Das Universitätsstudium in München, darunter zwei Semester Medizin, schloß ich im September 1963 mit dem Staatsexamen ab.

